

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta chemická

DIPLOMOVÁ PRÁCE



**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA CHEMICKÁ**

FACULTY OF CHEMISTRY

**ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ**

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**CHARAKTERIZACE SÝROVÝCH ANALOGŮ  
VYROBENÝCH S PŘÍDAVKEM OŘECHOVÉHO OLEJE**

CHARACTERIZATION OF CHEESE ANALOGUES PRODUCED WITH ADDITION OF NUT OIL

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

MASTER'S THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

**Bc. Michal Mitra**

**VEDOUCÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

**doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**

**BRNO 2020**

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1443/2019 Akademický rok: 2019/20  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Student: **Bc. Michal Mitra**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie  
Vedoucí práce: **doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**

### Název diplomové práce:

Charakterizace sýrových analogů vyrobených s přídavkem ořechového oleje

### Zadání diplomové práce:

1. Zpracujte literární přehled dané problematiky:
  - charakteristika, složení a vlastnosti sýrových analogů
  - technologie výroby
  - charakteristika, složení a vlastnosti vybraných ořechových olejů
  - aromaticky aktivní látky, volné a vázané mastné kyseliny v olejích, sýrech a sýrových analogích
  - možnosti stanovení aromaticky aktivních látek a mastných kyselin v sýrech a sýrových analogích
  - princip, provedení, přehled aplikací
  - možnosti senzorického hodnocení sýrů a sýrových analogů – přehled aplikací
2. Vytvořte modelové vzorky sýrových analogů s přídavkem ořechových olejů
3. Pomocí metody HS–SPME–GC–MS identifikujte a kvantifikujte těkavé látky ve vyrobených vzorcích analogů
4. Pomocí metody GC–FID identifikujte a kvantifikujte volné a vázané masné kyseliny ve vyrobených vzorcích analogů
5. Diskutujte rozdíly mezi vzorky

### Termín odevzdání diplomové práce: 29.5.2020:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

-----  
Bc. Michal Mitra  
student(ka)

-----  
doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Táto práca sa zaoberá výrobou a charakterizáciou syrových analógov, teda výrobkov, kde je čiastočne alebo úplne nahradená niektorá z mliečnych komponent nemliečnou zložkou.

Modelové vzorky – syr eidamského typu a analóg s prídavkom pistáciového oleja, boli vyrobené konvenčným technologickým postupom na MENDELU v Brne.

Ako hlavné charakterizujúce parametre kvality vzoriek boli vybrané a sledované voľné a viazané mastné kyseliny, prchavé (aromatické) látky a senzorická kvalita. Cieľom bolo charakterizovať rozdiely medzi vzorkami vzniknuté prídavkom orechového oleja v sledovaných parametroch.

Pre identifikáciu a semikvantifikáciu prchavých látok bola použitá metóda HS-SPME-GC-MS. Extrakcia tukov zo vzoriek bola prevedená zmesou rozpúšťadiel (dietyléter, petroléter), mastné kyseliny boli prevedené na metylestery kyslou esterifikáciou metanolicným roztokom bortrifluoridu ako katalyzátoru a následne identifikované a kvantifikované metódou GC-FID. Pre senzorické hodnotenie vzhľadu, farby, textúry, vône, chuti a celkovej prijateľnosti vzoriek boli použité popisné stupnice a porovnávanie so štandardom. Štruktúra bola sledovaná pomocou elektrónovej mikroskopie.

Z výsledkov vyplýva, že prídavok pistáciového oleja ovplyvňuje senzorické vlastnosti, priebeh dozrievania (vyšší obsah prchavých látok), nutričnú hodnotu (zvýšený obsah nenasýtených mastných kyselín) a stabilitu produktu.

## **KLÚČOVÉ SLOVÁ**

syrové analógy, orechové oleje, aromatické látky, MK, SPME, GC-FID/MS, senzorická analýza, elektrónová mikroskopia

## **ABSTRACT**

This thesis deals with the production and characterization of cheese analogues, i.e. products where some of the dairy components are partially or completely replaced by a non-dairy component.

Model samples – Eidam type cheese and analogue with the addition of pistachio oil, were produced by a conventional technological process at MENDELU in Brno.

Free and bound fatty acids, volatile substances and sensory quality were selected and monitored as the main characterizing parameters of the sample quality. The aim was to characterize the differences between the samples caused by the addition of nut oil in the monitored parameters.

The HS-SPME-GC-MS method was used for the identification and semi-quantification of volatiles. The extraction of fats from the samples was performed with a mixture of solvents (diethyl ether, petroleum ether), fatty acids were converted to methyl esters by acid esterification with methanolic solution of boron trifluoride as a catalyst and subsequently identified and quantified by GC-FID. Descriptive scales and comparisons with standard were used to sensory evaluate the appearance, color, texture, odor, taste, and overall acceptability of the samples. The structure was monitored by electron microscopy.

The results show that the addition of pistachio oil affects the sensory properties, the maturation process (higher content of volatile substances), the nutritional value (increased content of unsaturated fatty acids) and the stability of the product.

## **KEY WORDS**

cheese analogues, nut oils, aroma compounds, FA, SPME, GC-FID/MS, sensory analysis, electron microscopy

## CITÁCIA

MITRA, Michal. *Charakterizace sýrových analogů vyrobených s přidavkem ořechového oleje*. Brno, 2020. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce: doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.

## PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že som diplomovú prácu vypracoval samostatne a že všetky použité literárne zdroje som správne a úplne citoval. Diplomová práca je z hľadiska obsahu majetkom Fakulty chemickej VUT v Brne a môže byť použitá ku komerčným účelom len so súhlasom vedúceho diplomovej práce a dekana FCH VUT.

.....

podpis študenta

## POĎAKOVANIE

*Týmto by som chcel poďakovať pani doc. Ing. Eve Vítovej Ph.D. za odborné vedenie, pomoc a ochotu, ktoré mi venovala počas písania tejto práce, Mendelovej univerzite za poskytnutie možnosti výroby modelových vzoriek a spoločnosti Thermo Fisher Scientific Brno s. r. o. za poskytnutie snímok z elektrónového mikroskopu. V neposlednom rade by som chcel poďakovať mojej rodine a mojím priateľom za podporu počas celého štúdia. Ďakujem Vám*

## Obsah

1	ÚVOD .....	8
2	SÚČASNÝ STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY .....	9
2.1	Syry.....	9
2.1.1	História syrárstva.....	9
2.1.2	Rozdelenie syrov .....	9
2.1.3	Zloženie syrov s nízko dohrievanou syrovinou.....	10
2.1.4	Mliečny tuk .....	11
2.1.5	Technológia výroby syrov s nízko dohrievanou syrovinou .....	13
2.2	Syrové analógy .....	16
2.2.1	Suroviny na výrobu syrových analógov .....	17
2.2.2	„Plnené syry“ .....	19
2.2.3	Technológia výroby syrových analógov – „plnených syrov“ .....	20
2.3	Aromaticky aktívne látky v eidamských syroch a „plnených syroch“ .....	20
2.4	Mastné kyseliny v eidamských syroch a „plnených syroch“ .....	22
2.5	Vybraný orechový olej – pistáciový olej .....	23
2.5.1	Pistácia pravá ( <i>Pistacia vera</i> ).....	23
2.5.2	Pistáciový olej .....	23
2.6	Použité metódy a experimentálne techniky .....	27
2.6.1	Stanovenie mastných kyselín .....	27
2.6.2	Stanovenie aromaticky aktívnych látok .....	29
2.6.3	Elektrónová mikroskopia .....	31
2.6.4	Senzorická analýza .....	32
3	EXPERIMENTÁLNA ČASŤ .....	35
3.1	Laboratórne vybavenie .....	35
3.1.1	Prístroje .....	35
3.1.2	Plyny.....	35
3.1.3	Pracovné pomôcky .....	35
3.1.4	Chemikálie .....	35
3.2	Analyzované vzorky .....	36
3.3	Použité metódy pre stanovenie mastných kyselín .....	36



3.3.1	Extrakcia lipidov zo vzoriek syra podľa ČSN EN ISO 1735 .....	36
3.3.2	Príprava metylesterov mastných kyselín .....	37
3.3.3	Podmienky stanovenia metylesterov mastných kyselín pomocou GC-FID .....	38
3.3.4	Identifikácia a kvantifikácia mastných kyselín .....	39
3.4	Použité metódy pre stanovenie aromaticky aktívnych látok .....	42
3.4.1	Príprava vzoriek .....	42
3.4.2	Podmienky SPME extrakcie .....	42
3.4.3	Podmienky GC-MS analýzy .....	42
3.4.4	Identifikácia a kvantifikácia aromaticky aktívnych látok .....	43
3.5	Elektrónová mikroskopia .....	43
3.6	Senzorická analýza .....	43
3.6.1	Pracovné pomôcky .....	43
3.6.2	Senzorické hodnotenie .....	43
3.7	Štatistické spracovanie výsledkov .....	44
4	VÝSLEDKY A DISKUSIA .....	45
4.1	Výroba modelových vzoriek .....	45
4.2	Prchavé (aromatické) látky v modelových vzorkách syru a analógu .....	47
4.2.1	Prehľad identifikovaných prchavých látok vo vzorkách .....	48
4.2.2	Porovnanie počtu identifikovaných látok vo vzorkách .....	50
4.2.3	Porovnanie obsahu identifikovaných látok vo vzorkách .....	51
4.3	Voľné a viazané mastné kyseliny v modelových vzorkách syru a analógu .....	58
4.3.1	Prehľad identifikovaných mastných kyselín vo vzorkách .....	59
4.3.2	Porovnanie počtu a obsahu viazaných mastných kyselín vo vzorkách .....	60
4.3.3	Porovnanie počtu a obsahu voľných mastných kyselín vo vzorkách .....	63
4.4	Senzorická kvalita modelových vzoriek syru a analógu .....	66
4.5	Štruktúra modelových vzoriek syru a analógu .....	72
5	ZÁVER .....	76
6	POUŽITÁ LITERATÚRA .....	77
7	ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK .....	86
8	PRÍLOHY .....	87

# 1 ÚVOD

Syry sú súčasťou našej stravy už od nepamäti. Keďže sa v podstate jedná o koncentrát mliečnych bielkovín a tukov, majú syry vysokú nutričnú hodnotu. Okrem mliečnych tukov a bielkovín obsahujú celú radu vitamínov rozpustných v tukoch a taktiež biogénne prvky ako sú vápnik, horčík či fosfor. Práve tieto látky napomáhajú správne fungovaniu nášho organizmu. Postupným vývojom technológie na výrobu syrov sa vyvinulo nespočetné množstvo druhov syrov, typické pre každú geografickú oblasť. Mäkké či tuhé syry, syry, ktoré dozrievajú pomocou pôsobenia rôznych baktérií či plesní. Medzi najznámejšie druhy syrov na svete určite patria taliansky parmezán a mozzarella, švajčiarsky ementál, francúzske plesnivé syry brie a camembert alebo ich český ekvivalent hermelín, britský čedar a v neposlednom rade holandská gouda a eidam.

Približne v druhej polovici 20. storočia sa v syrárskom priemysle objavili takzvané syrové analógy. Jedná sa o potraviny, v ktorých je mliečna zložka čiastočne alebo úplne nahradená rastlinnou náhradou. Hlavným dôvodom produkcie týchto výrobkov bola ekonomická stránka, keďže použitím rastlinných surovín sa výrobná cena produktov znížila. Vo všeobecnosti mala spoločnosť zato, že tieto potraviny sú horšie a zďaleka nedosahujú rovnakých kvalít ako klasické syry. Postupom času, so zistením, že nadmerná konzumácia nasýtených mastných kyselín môže spôsobovať určité zdravotné problémy, sa pohľad spoločnosti na tieto výrobky zmenil. Na trhu sa začalo objavovať oveľa viac takýchto výrobkov, ktoré sa vedia vyrovnávať kvalitám klasických syrov, a dokonca obsahujú nejakú zložku, ktorá zvyšuje ich nutričnú hodnotu.

Práve tieto fakty mali za následok vzniknutie tejto práce, ktorá sa zaoberá výrobou a charakterizáciou syrového analógu vyrobeného s prídavkom pistáciového oleja. Tento olej obsahuje majoritné množstvo mono- a polynenasýtených mastných kyselín, z ktorých sú niektoré esenciálne. Rovnako obsahuje vysoké množstvo vitamínov, hlavne tokoferolov, a antioxidantov, ktoré nášmu organizmu napomáhajú vyrovnávať sa so stresom dnešnej doby.

Hlavným cieľom tejto práce je teda samotná výroba syrového analógu holandského typu s prídavkom pistáciového oleja, následne jeho charakterizácia čo sa týka obsahu voľných a viazaných mastných kyselín, obsahu aromatických látok a v neposlednom rade senzorická analýza, ktorá pomôže určiť, či by takýto výrobok uspel na spotrebiteľskom trhu. Vedľajším bonusom bolo sledovanie štruktúry vyrobených vzoriek a posúdenie možných rozdielov, ktoré vznikli prídavkom oleja do syrového zrna.

## 2 SÚČASNÝ STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY

Táto práca je zameraná na charakterizáciu modelových vzoriek tzv. syrových analógov, vyrobených s prídavkom vybraného druhu orechového oleja. Ako hlavné charakterizujúce parametre kvality vzoriek boli vybrané a sledované voľné a viazané mastné kyseliny, aromaticky aktívne látky a senzorická kvalita. V nasledujúcich kapitolách sú najprv stručne zmieňované syry, ktoré budú považované za akýsi štandard kvality vyrobených vzoriek z hľadiska chemického zloženia aj senzorickej kvality, hlavná pozornosť je následne venovaná syrovým analógom, je uvedená ich klasifikácia, suroviny, zloženie, vlastnosti a technológia výroby. Zvláštna kapitola je venovaná pistáciovému oleju, ktorý bol použitý na výrobu modelových vzoriek.

### 2.1 Syry

Mliečny výrobok, produkováný po celom svete v najrôznejších podobách a chutiach, je obecné pomenovaný syr. Jedná sa o koncentrát mliečnych bielkovín s obsahom nutrične hodnotných zložiek ako sú tuky, minerály a iné [1], ktorý je podľa vyhlášky č. 397/2016 Sb. definovaný ako „mliečny výrobok vyrobený vyzrážaním mliečnej bielkoviny z mlieka pôsobením syridla alebo iných vhodných koagulačných činidiel, prekvasením a oddelením podielu srvátky“ [2].

#### 2.1.1 História syrárstva

Syr je súčasťou ľudskej potravy po dobu niekoľko tisíc rokov. Prvé zmienky o výrobe syra siahajú do doby asi pred dvanásť tisíc rokmi v oblasti Stredného východu. Mlieko bolo skladované v drevených či hlinených nádobách, kožených vakoch alebo dokonca v žalúdkoch domácich zvierat, kde podliehalo fermentácii a tým dochádzalo k jeho zrážaniu. Výsledným produktom bola zrazenina mlieka v srvátke. Postupne sa technológie modernizovali, no dá sa predpokladať, že tento princíp je základom syrárstva na celom svete.

Postupom času sa začalo umenie syrárstva vyvíjať. Na zrážanie mlieka bolo použité syridlo. Mlieko sa nezrážalo kyslým zrážaním, čím sa zjemnila chuť syru ale aj znížila jeho kyslosť. Asi najväčší krok vo výrobe syrov nastal v polovici 19. storočia, kedy francúzsky mikrobiológ Louis Pasteur objavil pasterizačný zákrok. To malo za následok zničenie nežiaducej mikroflóry v mlieku, zvýšila sa údržnosť a zamedzilo sa nechceným bakteriálnym infekciám. Výroba syrov sa tak mohla presunúť do veľkých priemyslových závodov [3, 4].

#### 2.1.2 Rozdelenie syrov

Vďaka veľkému počtu druhov je rozdelenie syrov nejednoznačné. Najčastejšie sú syry charakterizované podľa týchto kritérií [5, 6, 7]:

- obsah vody v tukuprostej sušine (VVTPH)
  - veľmi tvrdé, menej ako 47 %
  - tvrdé, 47 až 55 %
  - polotvrde, 55 až 62 %
  - polomäkké, 62 až 68 %
  - mäkké, viac ako %
- obsah tuku v sušine (TVS)

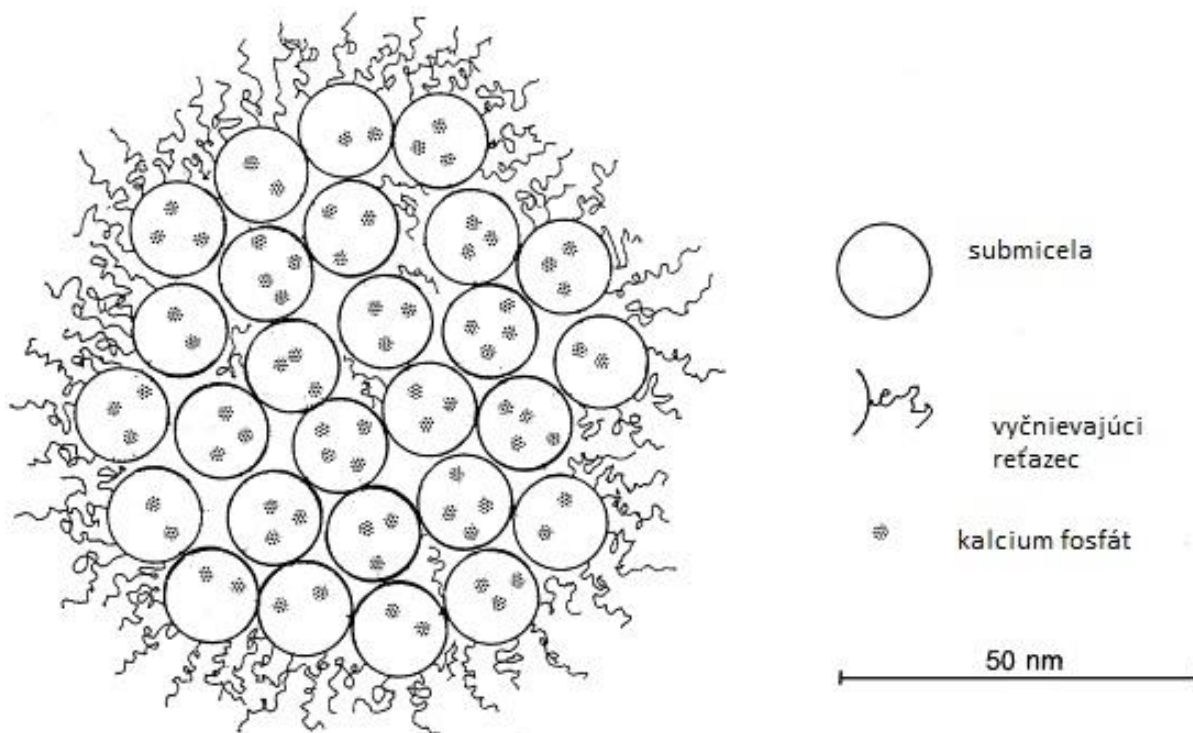
- vysokotučné, nad 60 %
- plnotučné, 45-60 %
- polotučné, 25-45 %
- nízko tučné, 10-25 %
- odtučnené, pod 10 %
- spôsob zrážania mlieka
  - pomocou syridla
  - pomocou kyseliny (najmä kyseliny mliečnej)
  - kombinované zrážanie
- spôsob dozrievania
  - nezrejúce – čerstvé syry
  - syry, dozrievajúce od povrchu do vnútra
  - syry, dozrievajúce v celej hmote
- použité mlieko
  - kravské
  - ovčie
  - kozie
  - iné

Vzhľadom k tomu, že syry a syrové analógy, ktoré sú predmetom skúmania tejto práce, sú vyrobené ako syry s nízko dohrievanou syrovinou (tzv. eidamského alebo holandského typu), sú nasledujúce kapitoly venované tomuto typu syra. Podľa vyššie uvedeného rozdelenia patria medzi prírodné sladké polotvrdé syry polotučné, prípadne plnotučné, dozrievajúce v celej hmote, vyrábané väčšinou z pasterizovaného kravského mlieka.

### 2.1.3 Zloženie syrov s nízko dohrievanou syrovinou

Hlavnou surovinou pre výrobu syrov je kravské mlieko, polydisperzný systém zložený z vody, bielkovín, cukrov, tukov a minerálov. Počas výroby syrov dochádza k zakonzcentrovaniu týchto zložiek [9].

Obsah bielkovín v mlieku je približne 3,4 %. Na základe ich rozpustnosti pri 20 °C a pH 4,6 sa delia do dvoch skupín. Prvú skupinu tvoria kazeíny, bielkoviny, ktoré sa pri daných podmienkach zrážajú. Obsah kazeínov v syre je približne 97 – 98 % z celkového obsahu bielkovín. Z hľadiska výroby syrov sú tieto bielkoviny dôležitejšie. Kazeíny sa delia do štyroch frakcií:  $\alpha_{s1}$ -,  $\alpha_{s2}$ -,  $\beta$ -  $\kappa$ - kazeín. Tieto bielkoviny sa v mlieku nachádzajú vo forme micel (Obrázok 1), tvorené submicelami, ktoré sú spoločne prepojené s koloidným fosforečnanom vápenatým. Povrch micel je tvorený  $\kappa$ -kazeínom, ten vďaka vyčnievajúcemu hydrofilnému reťazcu zabezpečuje stabilitu systému. Naopak, jadro micel je tvorené hydrofóbnou,  $\text{Ca}^{2+}$  senzitívnou frakciou  $\alpha_{s1}$ -,  $\alpha_{s2}$ -,  $\beta$ - kazeínov. Dôsledkom pôsobenia syridla na  $\kappa$ -kazeín dochádza k destabilizácii kazeínovej micely a strate vonkajšieho záporného náboja, ktorý bráni agregácii. Týmto spôsobom, v prítomnosti vápenatých iónov, dochádza ku koagulácii a následnému sformovaniu gélu [8-10, 12].



Obrázok 1 Model micely kazeínu[12]

Druhá skupina bielkovín je tvorená z takzvaných srvátkových bielkovín. Tieto bielkoviny sú za daných podmienok rozpustné. Sú tvorené z nefosforylovaných globulárnych proteínov –  $\beta$ -laktoglobulín a  $\alpha$ -laktalbumín. V minoritnom zastúpení sa tu tiež nachádzajú laktoferín, transferín, sérový albumín a rôzne imunoglobulíny. Tieto bielkoviny sa v syroch nachádzajú v minimálnom zastúpení, keďže sú od syroviny odstraňované v srvátke [8, 9, 11].

Spomedzi sacharidov je hlavným zástupcom laktóza – mliečny cukor. Jedná sa o disacharid zložený z dvoch hexóz – D-galaktózy a D-glukózy spojených  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) glykozidickou väzbou. Aj keď je obsah laktózy v mlieku pomerne vysoký – cca 4,8 %, je prevažná väčšina tohto cukru v procese výroby odstránená v srvátke. Laktóza, ktorá ostane v syrovom zrne, je ďalej skvasená mikroorganizmami na kyselinu mliečnu, preto je jej obsah v syroch zanedbateľný [8, 9].

Syry sa považujú aj za cenný zdroj niektorých vitamínov či minerálov. Z vitamínov má najväčšie zastúpenie vitamín A prípadne jeho provitamín  $\beta$ -karotén či vitamín D. Z minerálnych látok je asi najvýznamnejšie zastúpenie vápniku. Ten sa v syroch nachádza hlavne v koloidnej forme ako fosforečnan či kazeinát vápenatý. Okrem vápnika majú v syroch bohaté zastúpenie aj sodík, horčík či fosfor [9, 10].

#### 2.1.4 Mliečny tuk

Mliečny tuk sa považuje za jeden z najkomplexnejších v prírode vyskytujúcich sa tukov. Je to vďaka jeho druhovo bohatému zloženiu mastných kyselín (MK). Presný obsah a zloženie MK nie je vždy rovnaké. Medzi faktory, ktoré ovplyvňujú zloženie a jednotlivé zastúpenie MK patria: plemeno dobytka, zdravotný stav, spôsob chovu, výživa dobytka či ročné obdobie. V priemere mlieko obsahuje 3,5 až 5 % tuku, ten sa nachádza vo forme

emulgovaných guľôčok dispergovaných v sérovej fáze. Veľkosť guľôčok sa pohybuje v rozmedzí 0,1 – 10 µm a je taktiež závislá na plemene [8, 13].

Približne 98 % mliečneho tuku je tvorených z triacylglycerolov (TAG), ďalšie 2 % v sebe zahrňujú diacylglyceroly (DAG), monoacylglyceroly (MAG), voľné mastné kyseliny (VMK), fosfolipidy a steroly. Molekula TAG je obecné tvorená z glycerolu, na ktorý sú estericky naviazané 3 MK. Stavba TAG je veľmi rôznorodá, keďže sa v prírode nachádza viac ako 400 rôznych MK, tie sa od seba líšia dĺžkou reťazca, stupňom nasýtenosti, izomérii či polohami dvojitych väzieb, ktoré sa môžu naviazať do troch rôznych polôh na molekule glycerolu [14].

Membrána guľôčok je tvorená fosfolipidovou dvojvrstvou, ktorá napomáha stabilizácii a emulgácii systému. V mliečnom tuku sa nachádza približne 1 % fosfolipidov, hlavne lecitínov, kefalínov a sfingomyelínov. Z týchto má najväčšie zastúpenie lecitín, ktorý napomáha stabilizovať pomer medzi LDL a HDL frakciami lipoproteínov. Zo sterolov je najdôležitejší cholesterol. Ten sa nachádza, tiež ako fosfolipidy, v membráne tukových guľôčok, no je aj dôležitý pri metabolickej tvorbe žlčových kyselín, vitamínu D a steroidných hormónov. Menšie zastúpenie v mliečnom tuku majú ergosterol – prekursor vitamínu D, tokoferoly – vitamín E, skvalen a karotenoidy. Práve karotenoidy, z ktorých je najvýznamnejší β-karotén, sú zodpovedné za typicky nažltnutú farbu mliečneho tuku [7, 15].

#### **2.1.4.1 Obsah mastných kyselín v mliečnom tuku**

Z viac ako 400 rôznych MK, ktoré boli identifikované v mliečnom tuku, sa väčšina vyskytuje len v stopovom množstve. So zastúpením viac ako 1 % je len asi 15 MK. Približne 70 % tvoria nasýtené mastné kyseliny (SFA). Z kvantitatívneho hľadiska je najviac zastúpená kyselina palmitová (C16:0), tá predstavuje zhruba 30 %. Za ňou nasleduje kyselina stearová (C18:0) – 12 % a kyselina myristová (C14:0) – 11 %. Významné je tiež zastúpenie kyselín s krátkym reťazcom (C4:0 – C10:0) – 11 %. Z nich sú najviac zastúpené kyselina maslová (C4:0) a kapronová (C6:0). Práve tieto kyseliny sú typické pre mliečny tuk. Unikátnosťou mliečneho tuku je taktiež obsah MK s nepárnym počtom atómov uhlíkov. Tieto MK vznikajú v bachore činnosťou baktérií. Jedná sa o kyselinu pentadekanovú (C15:0) a kyselinu heptadekanovú (C17:0), no obe majú zastúpenie pod 1 % [1, 16, 17].

Približne 25 % obsahu tuku tvoria mononenасыtené mastné kyseliny (MUFA) s najväčším zastúpením kyseliny olejovej (C18:1) – 23 % z celkového obsahu. Polynenasýtené mastné kyseliny (PUFA) tvoria asi 2,3 %. Najpočetnejšími zástupcami z PUFA sú kyselina linolová (C18:2) a kyselina α-linolénová (C18:3) so zastúpením 1,6 a 0,7 % z celkového obsahu MK [16, 17].

Zhruba 2,7 % obsahu MK tvoria *trans*-mastné kyseliny s jednou alebo viacerými *trans* väzbami. Najvýznamnejšie zastúpenie má kyselina vakcenová (C18:1 11t), no jej množstvo závisí na sezóne. Mliečny tuk taktiež obsahuje esenciálnu konjugovanú kyselinu linolovú (CLA). Jedná sa o geometrický a polohový izomér kyseliny linolovej (C18:2, n-6), ktorá je produkovaná ako medziprodukt baktérií žijúcich v bachore dobytka. Má preukázateľne prospešný vplyv na ľudský organizmus, napr. antikarcinogénne, antioxidačné či

antiarterogénne účinky [16, 18]. Zastúpenie jednotlivých najvýznamnejších MK je v Tabuľka 1.

*Tabuľka 1 Zastúpenie jednotlivých MK v mliečnom tuku [prevzaté z: 16]*

Mastná kyselina	Obsah v %	Mastná kyselina	Obsah v %
4:0	4,4	14:1	0,8
6:0	2,4	16:1	1,0
8:0	1,4	17:1	0,1
10:0	2,7	18:1	22,8
12:0	3,3	MUFA	25,0
14:0	10,9	18:2	1,6
15:0	0,9	18:3	0,7
16:0	30,6	PUFA	2,3
17:0	0,4	16:1t	0,4
18:0	12,2	18:1t	2,1
20:0	0,2	18:2t	0,2
SFA	69,4	<i>trans</i> MUFA + PUFA	2,7
10:1	0,3	CLA	0,4

*SFA – nasýtené mastné kyseliny, MUFA – mononenasýtené mastné kyseliny, PUFA – polynenasýtené mastné kyseliny, CLA - konjugovaná kyselina linolová*

### **2.1.5 Technológia výroby syrov s nízko dohrievanou syrovinou**

Výroba syrov začína na príjmu mlieka v mliekarni. Tu sa mlieko najprv testuje, či spĺňa stanovené akostné požiadavky, akými sú: syriteľnosť – schopnosť zrážať sa syridlom, tvoriť zrazeninu požadovaných vlastností a schopnosť prekvasovať. Ďalším kritériom je mikrobiálna čistota mlieka. Nemalo by obsahovať žiadne hnilobné, plynotvorné či baktérie maslového kvasenia, ktoré by neskôr mohli konečný výrobok znehodnotiť či vyvolať alimentárne ochorenie u ľudí. Mlieko by nemalo obsahovať ani rezíduá antibiotík alebo iných cudzorodých látok, ktoré by neskôr mohli brzdiť rast baktérií mliečneho kvasenia [19, 20].

V ďalšom kroku sa mlieko štandardizuje. Tento proces zabezpečuje, aby vo výslednom produkte bolo dosiahnuté určité % TVS. Väčšinou to prebieha tak, že sa mieša odstredenú a plnotučnú mlieko, aby sa dosiahol správny pomer tuku a bielkovín [22].

Pasterizačný zázehrev slúži na usmrtenie nežiaducich mikroorganizmov. V praxi sa na výrobu syrov používa takzvaná šetrná pasterizácia – doba 30 s pri teplote 70 – 75 °C. Pri pasterizácii dochádza aj k denaturácii niektorých enzýmov. Významné je zníženie aktivity lipoproteínovej lipázy, čím nedochádza k lipolýze TAG, ktorá je pri výrobe týchto syrov nežiaduca. Ďalšou možnosťou na odstránenie mikroorganizmov, predovšetkým spór *Clostridium tyrobutiricum* je baktofugácia. Princíp tejto metódy je založený na použití odstredivej sily, keďže baktérie a spóry majú vyššiu hustotu ako mlieko. Vznikajú tzv. ťažké kaly, ktoré sa vysterilizujú pri teplote 130 – 140 °C a vracajú sa k hlavnému podielu mlieka [21, 22].

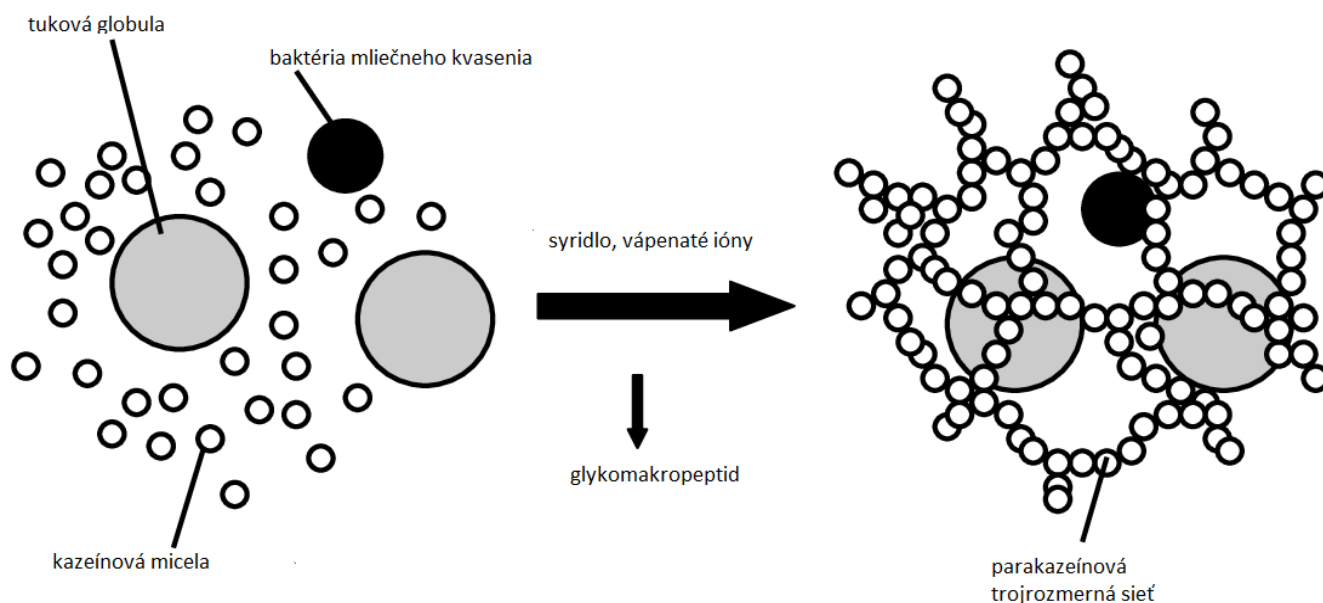
Po pasterizačnom zákroku nasleduje prídavok čistých mliekarenských kultúr, označovaných tiež zákvasové alebo štartovacie. Na výrobu syrov s nízko dohrievanou syrovinou sa využívajú mezofilné baktérie rodu *Lactococcus* spp. a *Leuconostoc* spp., konkrétne *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc lactis* a *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*. Tieto baktérie spôsobujú rýchlu a takmer úplnú fermentáciu laktózy na kyselinu mliečnu, čím dôjde k zníženiu pH na hodnotu 5,1 – 5,2. Zníženie pH má pri výrobe dôležitú úlohu, keďže podmieňuje kvalitu koagulátu, usmerňuje rýchlosť syrenia, podporuje syneréziu a taktiež zlepšuje aktivitu lipolytických a proteolytických enzýmov počas dozrievania. Rovnako je podporená aj proteolýza kazeínov rozpustením koloidného fosforečnanu vápenatého. Všetky tieto procesy napomáhajú vytvoriť vhodné podmienky pre vznik žiaducich senzorických vlastností. Prítomnosťou mliekarenských kultúr je navyše inhibovaný rast nežiaducich či patogénnych mikroorganizmov [21, 23].

Pri výrobe syrov je možné do mlieka pridávať farbivá na zachovanie konštantnej farby po celý rok. Pridávajú sa karotenoidné farbivá annatto alebo  $\beta$ -karotén. Annatto je žltočervené farbivo získavané zo semien stromu *Bixa orellana*.  $\beta$ -karotén sa vyskytuje prirodzene v mlieku v nízkych koncentráciách. K prídavným látkam patrí tiež chlorid vápenatý. Ten podporuje koaguláciu mlieka, zlepšuje aktivitu enzýmov, naštiepenie  $\kappa$ -kazeínu a zvyšuje rýchlosť agregácie parakazeínových micel. Štandardný prídavok je 10 – 100 g na sto litrov mlieka [21, 24].

Na enzymatickú koaguláciu mlieka sa pri výrobe syrov používa syridlo. Tradične sa syridlo získava zo žalúdka teliat. Takto získane syridlo obsahuje hlavne enzým chymozín. Avšak takto získavané syridlo by nepokrylo dopyt na trhu, preto sa ako náhrady teliaceho syridla používajú kurací či bravčový pepsín alebo mikrobiálne syridla získané z plesní. Taktiež sa využíva chymozín produkovaný geneticky modifikovanými organizmami [22, 23].

Podstatou vzniku mliečneho koagulátu je enzymatické štiepenie  $\kappa$ -kazeínu za vzniku parakazeínu a glykomakropeptidu. Enzymaticky je selektívne hydrolyzovaná peptidová väzba medzi fenylalanínom a metionínom – 105 a 106 aminokyselina v peptidovom reťazci. Po rozštiepení majoritného podielu  $\kappa$ -kazeínu začína agregácia parakazeínových micel, ktorá je podporená prítomnosťou vápenatých iónov. Micely následne začnú vytvárať trojrozmernú sieťovú maticu v ktorej sú zachytené ostatné zložky mlieka (Obrázok 2), ako sú: voda, tuky, srvátkové proteíny, laktóza či minerály. Proces vytvorenia trojrozmernej štruktúry trvá približne 20 – 30 minút pri teplote 30 – 31 °C. Vzniknutý gél sa následne krája pomocou špeciálnych nožov, vzniká pritom syrové zrno, ktorého veľkosť sa pohybuje od 8 do 15 mm. Práve krájaním je podporená synerézia srvátky zo zrna, teda tento krok rozhoduje o následnom obsahu vody, respektíve sušiny vo výslednom produkte. Platí, že čím je plocha zrn ku ich objemu vyššia, tým je viac podporené vylučovanie srvátky zo zrn [21, 22, 23].





Obrázok 2 Zrážanie mlieka pomocou syridla [25]

Nasleduje pranie a dohrievanie syroviny. Tieto dva procesy prebiehajú súčasne, a to odpustením časti srvátky a zároveň prídavkom teplej vody. Pranie syroviny upravuje konečnú koncentráciu zbytkovej laktózy, ktorá je fermentovaná štartovacou kultúrou, aby nenastal veľký pokles pH v syre. Zároveň dohrievanie syroviny podporuje syneréziu, ktorá prebieha za stáleho miešania približne ešte 30 minút, no keďže sa jedná o syry s nízko dohrievanou syrovinou, teplota by nemala presiahnuť 40 °C. Vyššie teploty by negatívne pôsobili na použité mezofilné mikroorganizmy [20, 21].

Ďalším krokom je formovanie a lisovanie syroviny. Syrovina sa oddeľuje od srvátky v špeciálnych perforovaných formách, ktoré podporujú odtok srvátky a dávajú syru finálny tvar. Pri výrobe polotvrdých a tvrdých syrov sa taktiež na syrovinu pôsobí tlakom. Ten podporuje uvoľňovanie ďalšej srvátky a taktiež zabezpečuje dôkladné spojenie častíc. Tlak počas lisovania musí narastať postupne, ináč by sa spevnila a uzavrela povrchová vrstva syru a to by zabránilo ďalšiemu odtoku srvátky [21, 22].

Predposledným úkonom pred samotným dozrievaním syru je solenie. Tento proces dodáva syrom ich výslednú chuť, podporuje čiastočné rozpustenie parakazeínu, bráni rastu škodlivých mikroorganizmov, spevňuje jeho povrch a upravuje obsah vody v syrovom ceste. Pri výrobe sa hlavne používa máčanie v solnom roztoku s koncentráciou NaCl 18 – 20 % a koncentráciou  $\text{Ca}^{2+}$  približne 0,2 % pri teplote 13 °C. Syry sa máčajú v slanom roztoku približne 15 – 20 hodín, následne sa nechajú oschnúť a balia sa do dozrievacích obalov [20, 21, 23].

Obalový materiál pre syry by mal dosahovať vlastností, ktoré svojím pôsobením zabezpečia správne dozrievanie a následne aj uchovanie produktu. Mal by poskytovať dostatočnú ochranu pred škodlivými mikroorganizmami, taktiež špecifickú priepustnosť pre plyny a vlhkosť a v neposlednom rade ochraňovať syr pred mechanickým poškodením pri distribúcii či upravovať jeho vzhľad. Klasickým obalom je červený parafrínový vosk, ktorý

však neposkytuje tak dobré ochranné vlastnosti pred napadáním mikroorganizmami, ako stále viac používané plastové fólie z polyamidu a polyetylénu [21, 22].

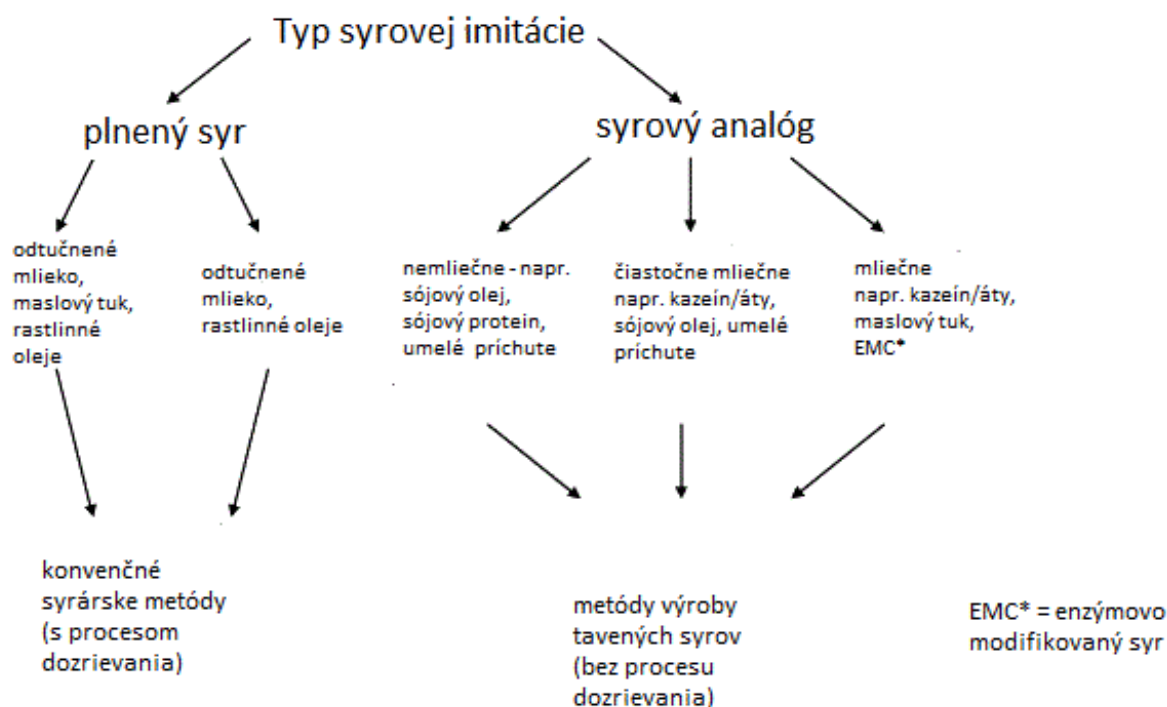
Takto pripravené a zabalené syry dozrievajú v špeciálnych klimatizovaných komorách. Pre syry s nízko dohrievanou syrovinou je typické dozrievanie v dvoch fázach. V prvej fáze sú syry podobu 6 týždňov pri teplote 15 °C a relatívnej vlhkosti 85 %, následne je na 5 až 7 týždňov teplota znížená na 12 °C. Po tejto dobe sa syry uskladňujú v skladoch s teplotou 0 – 5 °C a 80 – 85 % relatívnou vlhkosťou [20, 23].

## **2.2 Syrové analógy**

Výrobky, v ktorých je niektorá mliečna zložka (tuk, bielkoviny) nahradená zložkou rastlinného pôvodu, sa nazývajú syrové analógy respektíve syrové imitácie. Dopyt na trhu po týchto výrobkoch má v posledných rokoch stúpajúci trend, hlavne vďaka ich cenovej dostupnosti kvôli nahradeniu drahej mliečnej zložky lacnejšou zložkou rastlinného pôvodu či vďaka ich jednoduchším spôsobom výroby [26].

Vývoj syrových analógov zahŕňa použitie iných tukov a/alebo bielkovín, ako tých, ktoré sa prirodzene vyskytujú v mlieku. Taktiež sú použité aj arómy a príchute, aby sa finálny výrobok čo najviac podobal prírodnému syru. Je preto potrebné vyvinúť vhodné metódy spracovania surovín, aby boli dosiahnuté požadované textúrne a funkčné vlastnosti. Tým pádom sa môžu syrové analógy považovať za inžinierske výrobky [28].

Sú známe dva typy výroby syrových imitácií (Obrázok 3). V prvom sa využívajú konvenčné syrárske postupy s využitím klasického mlieka. Takto vyrobené produkty sa nazývajú „plnené syry“. Druhý typ, označovaný ako syrový analóg, je vyrábaný miešaním rôznych surových materiálov s použitím technológie podobnej pre výrobu tavených syrov. Pri výrobe syrových analógov sa používajú bielkoviny a/alebo tuky nemliečného pôvodu spolu so zložkami, ktoré zabezpečujú, aby výrobok čo najviac pripomínal klasický prírodný, prípadne tavený syr [26].



Obrázok 3 Delenie syrových imitácií [26]

Najčastejšie sa na trhu vyskytujú čiastočne mliečne analógy, ktoré sú vyrobené z mliečnych bielkovín (syridlový kazeín a/alebo kazeináty) s použitím rastlinných olejov či tukov (sojový, palmový, repkový). Nemliečne analógy, vyrábané úplným nahradením mliečnych zložiek za rastlinné, nemajú veľký komerčný význam, no v súčasnosti sú obľúbenou potravinou hlavne pre vegánov. Mliečne analógy sa kvôli ich vysokej cene vstupných surovín veľmi neprodukurujú [27].

Syrové analógy sa stávajú čoraz obľúbenejšími rovnako ako na strane výrobcov, tak aj na strane spotrebiteľov vďaka mnohým potenciálnym výhodám. V USA sú produkované tak, aby ich nutričná hodnota bola ekvivalentná alebo vyššia ako u syrov prírodných. Obsah vitamínov a minerálov môže byť lepší kvôli vhodnej fortifikácii týchto látok do produktu. Ak je na výrobu použitý vhodný nenasýtený tuk, výrobok môže mať určité stravovacie alebo zdravotné výhody, ktoré sú spojené s príjmom nenasýtených MK. Rovnako, ak sa počas výroby nepoužije žiadny mliečny tuk, vzniká výrobok, ktorý je prakticky bez cholesterolu [28].

### 2.2.1 Suroviny na výrobu syrových analógov

Na výrobu syrových analógov sa používa mlieko, mliečny tuk, sladký kazeín, rastlinný olej, soli a kyseliny. Okrem toho, ich zloženie môže byť obohatené o rôzne vitamíny, minerály či iné nutrične hodnotné zložky [29]. Suroviny na ich výrobu sú v Tabuľka 2.

Tabuľka 2 Suroviny na výrobu syrových analógov[29]

Typ ingrediencie	Hlavný efekt/funkcia	Príklad
tuky	dávajú požadované zloženie, štruktúru, taviace vlastnosti, maslový tuk dodáva mliečnu príchuť	maslo, sušený mliečny tuk, prírodné alebo čiastočne hydrogenované oleje (sójový, kukuričný, palmový)
mliečne proteíny	dávajú požadované zloženie, polotvrdú štruktúru, tekuté a elastické vlastnosti pri záhreve, vytvárajú fyzikálne-chemickú stabilitu	kazeín, kazeináty, srvátkový proteín
rastlinné proteíny	dávajú požadované zloženie, nízke náklady na kazeín, málo používané kvôli poškodzovaniu sensorickej kvality produktu	sójový, arašidový, pšeničný proteín
škroby	náhrada kazeínu, zníženie nákladov	prírodné alebo modifikované škroby z kukurice, ryže, zemiakov
stabilizátory a emulzifikačné soli	asistujú pri vytváraní fyzikálno-chemickej stability, pôsobia na štruktúrne a funkčné vlastnosti	sodné citráty a fosfáty
hydrokoloidy	zvyšujú stabilitu produktu, ovplyvňujú štruktúrne a funkčné vlastnosti	karagenany, jedlé gummy, napr. xanthanová, arabská
kyseliny	kontrola pH finálneho produktu	organické kyseliny, napr. mliečna, citrónová, octová
príchute a zvýrazňovače	zdôraznenie chuti	enzýmovo modifikované syry, NaCl, kvasnicové extrakty, dymové extrakty
sladiace činidla	pridávajú sladkosť, hlavne produkty pre deti	dextróza, kukuričný sirup, hydrolyzované škroby, hydrolyzovaná laktóza
farbiva	dodávajú požadovanú farbu	annatto, paprika, syntetické farbiva
konzervačné činidla	Predlžujú trvanlivosť, obmedzujú rast plesní	nisin, propionát vápenatý, sodný, sorbany
vitamíny a minerály	zlepšenie nutričnej hodnoty	Fe, Mg, Zn, vitamín A, riboflavín B <sub>2</sub> , thiamín B <sub>1</sub> , kyselina listová B <sub>10</sub>

### 2.2.2 „Plnené syry“

Syntetické syrové výrobky, v ktorých je mliečny tuk nahradený lacnejšou živočíšnou alebo rastlinnou alternatívou, sa vyrábajú už mnoho rokov. Najväčší rozmach tejto praxe nastal počiatkom štyridsiatych rokov 20. storočia, keď sa objavili pokroky v technológiách spracovania, homogenizácie a miešania tekutín. Asi najväčšou výhodou syrových analógov, a rovnako aj dôvodom uvedenia do komerčného meradla, boli ich nižšie výrobné náklady oproti prírodným syrom. V posledných rokoch však so zvýšenou informovanosťou verejnosti o nebezpečenstve cholesterolu, ktorý sa nachádza v živočíšnych tukoch, získavajú popularitu hlavne syrové výrobky, v ktorých je mliečny tuk nahradený rastlinným [26].

„Plnené syry“ sa všeobecne líšia od syrov prírodných tým, že mliečny tuk je čiastočne alebo úplne nahradený rastlinným olejom, ktorý môže byť čiastočne hydrogenovaný aby sa svojím profilom čo najviac podobal mliečnemu tuku. Tieto výrobky je možné vyrobiť dvomi spôsobmi – použitie klasického mlieka s rastlinným olejom, v tomto prípade výrobok obsahuje mliečny tuk aj rastlinný olej. Druhým spôsobom je použitie odtučneného mlieka a rastlinného oleja. Vo výrobku je teda tuková časť čisto rastlinného pôvodu. Oba spôsoby výroby zahŕňujú konvenčné syrárske metódy s procesom dozrievania [9].

Aj keď sa tieto výrobky na trhu už bežne vyskytujú, doposiaľ je známych a publikovaných málo informácií o ich zložení, vlastnostiach a biochemických zmenách prebiehajúcich behom výroby a skladovania. Následné citované práce väčšinou porovnávajú zloženie, nutričnú hodnotu a senzorické vlastnosti klasických syrov oproti príslušným analógom či „plneným syrom“.

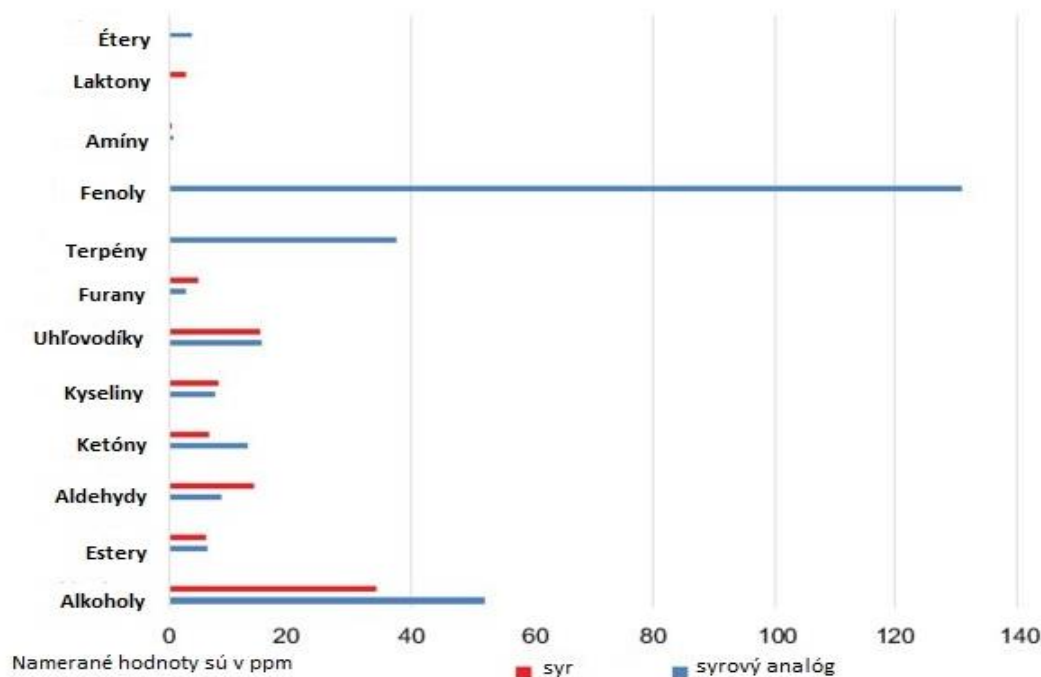
Marapana a kol. [30] vo svojej štúdií úspešne vyrobili syrový analóg s obsahom  $50 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  kukuričného oleja. Vyrobená vzorka nedosahovala takých senzorických vlastností ako komerčný výrobok, no mala preukázateľne vyšší obsah MUFA a PUFA (Tabuľka 3). Taktiež bol viditeľne vyšší obsah omega3 a omega6 MK. Použitím vhodných zvýrazňovačov chuti môže tento analóg predstavovať zdravú a ekonomicky výhodnú alternatívu k syrom.

Tabuľka 3 Porovnanie obsahu MK v syre a syrovom analógu [prevzaté z 30]

Mastné kyseliny	Komerčná vzorka ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku)	Syrový analóg ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku)
SFA	74,9	23,3
MUFA	23,2	31,2
PUFA	1,9	44,3
Neidentifikované MK	0,0	1,2
Omega3 a omega6 MK	1,9	44,3

Zoidou a kol. [31] vyrobili srvátkový syrový analóg s použitím rastlinného tuku s 15 % obsahom olivového oleja. Obdobne ako v prípade Marapana a kol. [30], vyrobená vzorka obsahovala preukázateľne vyšší obsah MUFA a PUFA, no vďaka použitiu rastlinného tuku neboli vo vzorke takmer vôbec prítomné MK s krátkym reťazcom ( $\text{C}_4 - \text{C}_{10}$ ). Za povšimnutie stojí aj obsah aromatických látok, hlavne fenolov a terpenov (Obrázok 4). Tie sú vo vzorke prítomné vďaka použitiu tymianových lístkov, ktoré výrobku dodávajú

charakteristický flavour. Zanedbateľný nie je ani obsah alkoholov. Tie vznikajú ako produkty rôznych metabolických dráh ako sú napr. metabolizmus laktózy, metyl-ketónova redukcia, metabolizmus aminokyselín a tiež degradácia kyseliny linolovej a linolénovej.



Obrázok 4 Obsah aromatických látok v syre a syrovom analógu s prídavkom olivového oleja [prevzaté z 31]

### 2.2.3 Technológia výroby syrových analógov – „plnených syrov“

Táto technológia je zhodná s výrobou prírodných syrov (viď kapitola 2.1.5), sú teda využívané konvenčné syrárske metódy. Jediný rozdiel spočíva v zapracovaní rastlinného oleja do mlieka pred samotným syrením [26].

## 2.3 Aromaticky aktívne látky v eidamských syroch a „plnených syroch“

Prchavé látky zohrávajú dôležitú úlohu pri vnímaní syrovej chuti/arómy. Typická syrová aróma je výsledkom prchavých látok, ktoré vznikajú procesom lipolýzy, proteolýzy a metabolizmom laktózy, laktátu a citrátu v priebehu dozrievania syrov. V porovnaní s inými druhmi syrov majú eidamské syry miernu až nevýraznú arómu. V dôsledku odstránenia mikroflóry, prirodzene sa nachádzajúcej v mlieku, behom procesu pasterizácie, je dozrievanie spomalené a teda sa rozvíja menej intenzívny flavour, ako pri použití surového mlieka. Mastné kyseliny sú hlavnými prekursorami zlúčenín, vznikajúcich sekundárnym metabolizmom (metylketóny, voľné mastné kyseliny, aldehydy, laktóny a estery). Tieto zlúčeniny majú odlišné chuťové vlastnosti a nízke prahy vnímania, preto sa očakáva, že tieto látky zohrávajú podstatnú úlohu v celkovej chuti syra. Tuk v syre taktiež pôsobí ako nepolárne rozpúšťadlo pre aromatické látky a poskytuje fázové rozhranie voda/proteín/tuk, ktoré napomáha reakciám, vytvárajúcim vôňu. Taktiež enzymatická degradácia aminokyselín

počas dozrievania syra vedie k tvorbe prchavých látok ovplyvňujúcich arómu. Kazeíny degradujú na peptidy a aminokyseliny. Metionín, aromatické a rozvetvené aminokyseliny sú prekurzormi pre sírne zlúčeniny (methional, dimetyl-disulfid, dimetyltrisulfid, ktoré sú spojované s výraznou arómou kapusty, cibule, cesnaku či karfiolu), pre aromatické a rozvetvené aldehydy (benzaldehyd, fenylacetaldehyd, 3-metylbutanal, 2-metylbutanal, 2-metylpropanal, ktoré sa spájajú so sladovou arómou), pre prchavé kyseliny (kyselina 3-metylbutanová, kyselina 2-metylbutanová, kyselina izomaslová), ktoré sa spájajú s nepríjemnými pachmi ako „spotené či hnilobné“ a pre alkoholy s rozvetveným reťazcom (3-metylbutanol, 2-metylbutanol, 2-metylpropanol), zodpovednými za ovocnú a alkoholovú arómu. Okrem lipidov a proteínov má dôležité postavenie pri vzniku syrovej arómy aj laktóza. Laktóza, laktát a citrát prispievajú k tvorbe diacetylu, acetoínu, etanolu a acetátu [51, 52, 80].

Diacetyl (butan-2,3-dión) je jednou z najdôležitejších aromaticky aktívnych látok (AAL) v holandských syroch. Táto látka vzniká prevažne z pyruvátu, ktorý pochádza z metabolizmu laktózy a citrátu, a je zodpovedná za maslovú, karamelovú a orechovú arómu. Čiastočnou redukciou diacetylu vzniká acetoin (3-hydroxybutan-2-ón) s maslovou, karamelovou a kvetinovou arómou. Následná redukcia acetoinu poskytne bután-2,3-diol, ktorý nesie ovocnú, maslovú, orechovú vôňu či pach kyslého mlieka [52, 81-83].

Výslednými produktmi metabolických dráh citrátu, laktátu, katabolizmu alaninu, serínu alebo threoninu sú karboxylové kyseliny s krátkym reťazcom ako kyselina octová, propiónová či maslová. Kyselina octová je zodpovedná za ostro-kyslý zápach, kyselina propionová nesie maslovo-smotanovú arómu a kyselina maslová je pôvodcom voní ako „spotená, hnijúca či zatuchlá“. Avšak v nízkych koncentráciách je kľúčovou zložkou arómy a patrí medzi najviac zastúpenú VMK v eidamských syroch. Z esterov sú najviac zastúpené etyl-estery, konkrétne etyl-butykrát, ktorý je spojovaný so sladkou kvetinovou a ovocnou arómou [51, 74, 80, 82, 83].

K ostatným zlúčeninám nachádzajúcim sa v eidamských syroch, patrí D-limonén. Tento cyklický terpén sa dostáva do mlieka a následne do syrov ako súčasť stravy dojnic. Je charakterizovaný vôňami ako „mäťová či trávová“ [80, 83].

Mnoho autorov sa zaoberalo stanovením AAL v syroch, v tabuľke 4 sú uvedené niektoré doposiaľ identifikované AAL v eidamských syroch.

*Tabuľka 4a Vybrané AAL identifikované v eidamských syroch [prevzaté z 52, 80, 84]*

zlúčenina	a	b	c	zlúčenina	a	b	c	zlúčenina	a	b	c
<b>alkoholy</b>				<b>ketóny</b>				dodekanová		+	
1-butanol		+		2-pentanón		+		tetradekanová		+	
3-metyl-1-butanol	+	+		2-hexanón		+		hexadekanová		+	

Tabuľka 4b Vybrané AAL identifikované v eidamských syroch (pokračovanie) [prevzaté z 52, 80, 84]

zlúčenina	a	b	c	zlúčenina	a	b	c	zlúčenina	a	b	c
benzylalkohol		+		2-heptanón	+	+		<b>estery</b>			
2-fenyletanol		+		2-oktanón		+		etyl-butanoát		+	+
2,3-butándiol		+		2-nonanón	+	+		etyl-hexanoát		+	
<b>aldehidy</b>				2-dekanón		+		etyl-oktanoát		+	
3-metylbutanál	+	+	+	2-undekanón		+		etyl-dekanoát		+	
2-metylbutanál	+	+	+	2-dodekanón		+		etyl-dodekanoát		+	
benzaldehyd		+		2-tridekanón		+		etyl-hexanoát		+	
fenylacetaldehyd		+		2-pentadekanón		+		<b>laktóny</b>			
pentanál		+		3-hydroxy-2-butanón	+	+	+	$\gamma$ -nonalaktón		+	
hexanál		+	+	2,3-butandión			+	$\gamma$ -undecalaktón		+	
heptanál		+	+	<b>kyseliny</b>				$\gamma$ -dodecalaktón		+	
nonanál		+		2-metylpropánová		+		$\delta$ -octalaktón		+	
dodekanál		+		3-metylbutánová		+		$\delta$ -decalaktón		+	+
tetradekanál		+		2-metylbutánová		+		$\delta$ -dodecalaktón		+	
hexadekanál		+		butánová	+	+	+	<b>sírne zlúčeniny</b>			
2-nonenál		+		hexanová	+	+	+	dimetyl disulfid	+	+	+
2-decenál		+		oktánová	+	+	+	methional		+	+
2,4-heptadienál		+		nonanová		+		dimetyl trisulfid		+	+
2,4-decadienál		+		dekanová		+		<b>terpény</b>			
				undekanová		+		D-limonén	+		

+ = zlúčenina bola identifikovaná, a = [84], b = [52], c = [80]

## 2.4 Masné kyseliny v eidamských syroch a „plnených syroch“

Vzhľadom nato, že masné kyseliny, nachádzajúce sa v syroch a syrových analógoch, pochádzajú zo surovín použitých na ich výrobu, je táto problematika rozpísaná v kapitolách 2.1.4 a 2.5.2.



## 2.5 Vybraný orechový olej – pistáciový olej

Orechy sú sušené ovocné plody s tvrdou škrupinou okolo jedlého jadra. Jedná sa o bohaté výživné potraviny s vysokým obsahom oleja, ktorý obsahuje majoritný podiel nenasýtených MK a ďalších zdraviu prospešných látok ako sú fenoly, flavanoidy, proantokyany, stilbeny, fytosteroly či karotenoidy [32]. Mnohé práce, napr. Falasca a kol. [33] a Barbour a kol. [34] skúmali zdravotné benefity konzumácie orechov, so zistením, že ich príjem má priaznivý vplyv na potlačenie kardiovaskulárnych a onkologických chorôb.

Pre výrobu modelových vzoriek syrových analógov bol v tejto práci použitý pistáciový olej, ktorého zloženie, vlastnosti, použitie či výroba sú charakterizované v nasledujúcich kapitolách.

### 2.5.1 Pistácia pravá (*Pistacia vera*)

Biotop pistácií je podobný biotopu mandľovníkov či olivovníkov. Lepšie sa jej darí počas dlhého, horúceho a suchého leta, pretože vysoká vlhkosť prostredia vedie k rozvoji plesňových chorôb. Pistácia kvitne pomerne neskoro, niekedy okolo apríla, preto je vhodnou voľbou na pestovanie v oblastiach s rizikom jarných mrazov. Ľahko sa vie prispôbiť rastu na kamennom či vápencovom podklade, taktiež, vďaka schopnosti získavať vodu aj na miestach kde je jej málo, dosahuje tento strom relatívne vysokej produkcie plodov oproti iným ovocným stromom. Tieto vlastnosti robia z pistácie vhodnú voľbu pre pestovanie v krajinách blízkeho východu, Grécku, Taliansku, Španielsku či USA s ročnou produkciou okolo milióna ton [32].

### 2.5.2 Pistáciový olej

#### 2.5.2.1 Zloženie

Rovnako ako iné orechové oleje, je aj pistáciový olej bohatý na nenasýtené MK. Dominantnou kyselinou je kyselina olejová (C18:1) s obsahom cca 50 – 80 % podľa odrody a pôvodu. Najviac zastúpenou polynenasýtenou kyselinou je kyselina linolová (C18:2), ktorá má inverzný vzťah voči kyseline olejovej. Tento vzťah umožňuje výber fenotypov na produkciu oleja s rôznou výživovou hodnotou. Nezanedbateľnú rolu v profile MK v oleji zohráva aj zavlažovanie či podložie, na akom strom rastie. V Tabuľka 5 je zobrazené zastúpenie vybraných MK v pistáciovom oleji podľa jeho pôvodu [32, 35, 36].

Tabuľka 5 Obsah vybraných MK v pistáciovom oleji v závislosti na krajine pôvodu [prevzaté z 32]

krajina	kyselina:	palmitová	palmitolejová	stearová	olejová	linolová
Turecko		8,50 – 11,70	1,30 – 1,50	2,45 – 3,50	65,15 – 70,65	15,30 – 18,70
Irán		9,93 – 10,56	0,61 – 0,93	1,43 – 2,42	61,57 – 66,24	17,49 – 25,18
Grécko		9,50 – 10,80	0,67 – 0,95	1,10 – 2,60	55,10 – 72,00	13,30 – 28,90
Tunisko		11,20 – 15,70	1,50 – 2,50	2,30 – 2,70	54,20 – 76,80	7,60 – 24,10
Španielsko		9,67 – 9,96	0,79 – 0,92	2,66 – 2,97	74,45 – 76,46	9,60 – 10,96

Zastúpenie MK je vyjadrené v % na celkový obsah MK v oleji.

Givianrad a kol. [37] vo svojej štúdií, zameranej na identifikáciu MK zo vzoriek pistáciového oleja, použili plynovú chromatografiu s plameňovo – ionizačným detektorom,

s vysoko polárnou kolónou na identifikáciu metylesterov MK. Najväčšie zastúpenie dosahovali mononenasýtené MK, nasledované polynenasýtenými. Najmenšie zastúpenie mali nasýtené MK. Jednotlivé výsledky sú zobrazené v Tabuľka 6.

*Tabuľka 6 Zastúpenie MK v pistáciovom oleji [prevzaté z 37]*

mastná kyselina	zastúpenie v %	mastná kyselina	zastúpenie v %
myristová (C14:0)	0,15 ± 0,12	linoelaidová (C18:2)	0,04 ± 0,15
palmitová (C16:0)	13,12 ± 0,21	linolová (C18:2)	29,76 ± 0,30
palmitolejová (C16:1)	2,04 ± 0,10	α-linolénová (C18:3)	0,59 ± 0,08
margarová (C17:0)	0,07 ± 0,02	arachová (C20:0)	0,17 ± 0,06
heptadecenová (C17:1)	0,09 ± 0,02	gondoová (C20:1)	0,32 ± 0,02
stearová (C18:0)	2,78 ± 0,17	behenová (C22:0)	0,18 ± 0,04
olejová (C18:1)	50,65 ± 0,82	lignocerová (C24:0)	0,04 ± 0,02

Medzi mikrokomponenty obsiahnuté v pistáciovom oleji patria aj fenolické látky, ktoré vykazujú vysokú antioxidačnú aktivitu, ochraňujú bunky pred poškodením voľnými radikálmi a taktiež majú ochranný účinok proti rakovine gastrointestinálneho traktu a srdcovým chorobám. Kvantitatívne zloženie fenolických látok v oleji je vysoko variabilné a závisí na jednotlivých kultivároch [33, 35].

Čo sa týka zastúpenia sterolov, pistáciový olej vykazuje, v porovnaní s inými orechovými olejmi, celkovo najvyšší obsah týchto látok. Má typickú distribúciu sterolov, ktorá sa vyznačuje vysokým obsahom β-sitosterolu a nízkym obsahom kampsterolu a stigmasterolu, podobne ako pri olivovom oleji. Tieto steroly sa javia ako lepšie identifikátory na určenie pôvodu pistácií, ako pri použití MK [32, 38].

Významný, no síce nižší ako v ostatných orechoch, akými sú mandle či vlašské orechy, je obsah tokoferolov. Z izomérov je najviac zastúpený α a γ tokoferol, v minoritnom zastúpení sa v oleji nachádza β a δ tokoferol [39]. V roku 2013 sa tímu Givianrad a kol. [37] prvý raz podarilo kvantifikovať zastúpenie jednotlivých izomérov tokoferolov v pistáciovom oleji, uvedené v Tabuľka 7.

*Tabuľka 7 Obsah tokoferolov v pistáciovom oleji [prevzaté z 37]*

tokoferol	obsah v mg·kg <sup>-1</sup>
α	379,68 ± 0,92
γ + β	20,70 ± 0,04
δ	9,59 ± 0,02
celkovo	409,97

Obsah prchavých látok je veľmi rozmanitý, v niekoľkých prácach od rôznych autorov bolo identifikovaných viac ako 40 zlúčenín, tvorených hlavne aldehydmi, alkoholmi, pyrazínmi, terpénmi, laktónmi a karboxylovými kyselinami. Avšak nie všetky tieto látky sú

aromaticky aktívne. Sonmezdag a kol. [85] stanovovali AAL v pistáciiovom oleji pomocou metódy GC-MS s olfaktometriou. Zo 43 identifikovaných zlúčenín javilo aktívny aromatický charakter iba 14. Niektoré identifikované zlúčeniny sú v Tabuľka 8.

Tabuľka 8 Vybrané AAL identifikované v pistáciiovom oleji [prevzaté z 85, 86]

zlúčenina	L	S	zlúčenina	L	S
<b>aldehydy</b>			2-etylpyrazín	a	
2-metylpropanál	a		2,3-dimetylpyrazín	a	a
2-metylbutanál	a		2-etyl-6-metylpyrazín	a	a
3-metylbutanál	a		2-etyl-5-metylpyrazín	a	
hexanál	a	a, b	2-etyl-3-metylpyrazín	a	a
nonanál	a	a, b	2,3,5-trimetylpyrazín	a	
benzaldehyd	a	a, b	2-etyl-3-metylpyrazín	a	
2-decenál	a		2-etyl-3,5-dimetylpyrazín	a	a, b
<b>alkoholy</b>			3,5-dietyl-2-metylpyrazín	a	
hexanol	a	a, b	pyrazínamid	a	
1-okten-3-ol	a	a	<b>pyroly</b>		
oktanol	a		1-metyl-1H-pyrol	a	
nonanol	a		1-metyl-2-pyrolidón	a	
fenyletylalkohol	a	a	2-acetylpyrol	a	a
<b>kyseliny</b>			2-pyrolidón	a	a
octová		a, b	<b>furany</b>		
pentanová	a	a	2-pentylfurán	a	
hexanová	a		furfurál	a	
heptanová		a	dihydro-5-etyl-2(3H)-furanón	a	a, b
oktanová		a	<b>terpény</b>		
<b>pyraziny</b>			$\alpha$ -pinén	a	a
2-metylpyrazín	a	a	3-karén	a	
2,5-dimetylpyrazín	a	a, b	$\beta$ -myrcén	a	a, b
2,6-dimetylpyrazín	a		D-limonén	a	a

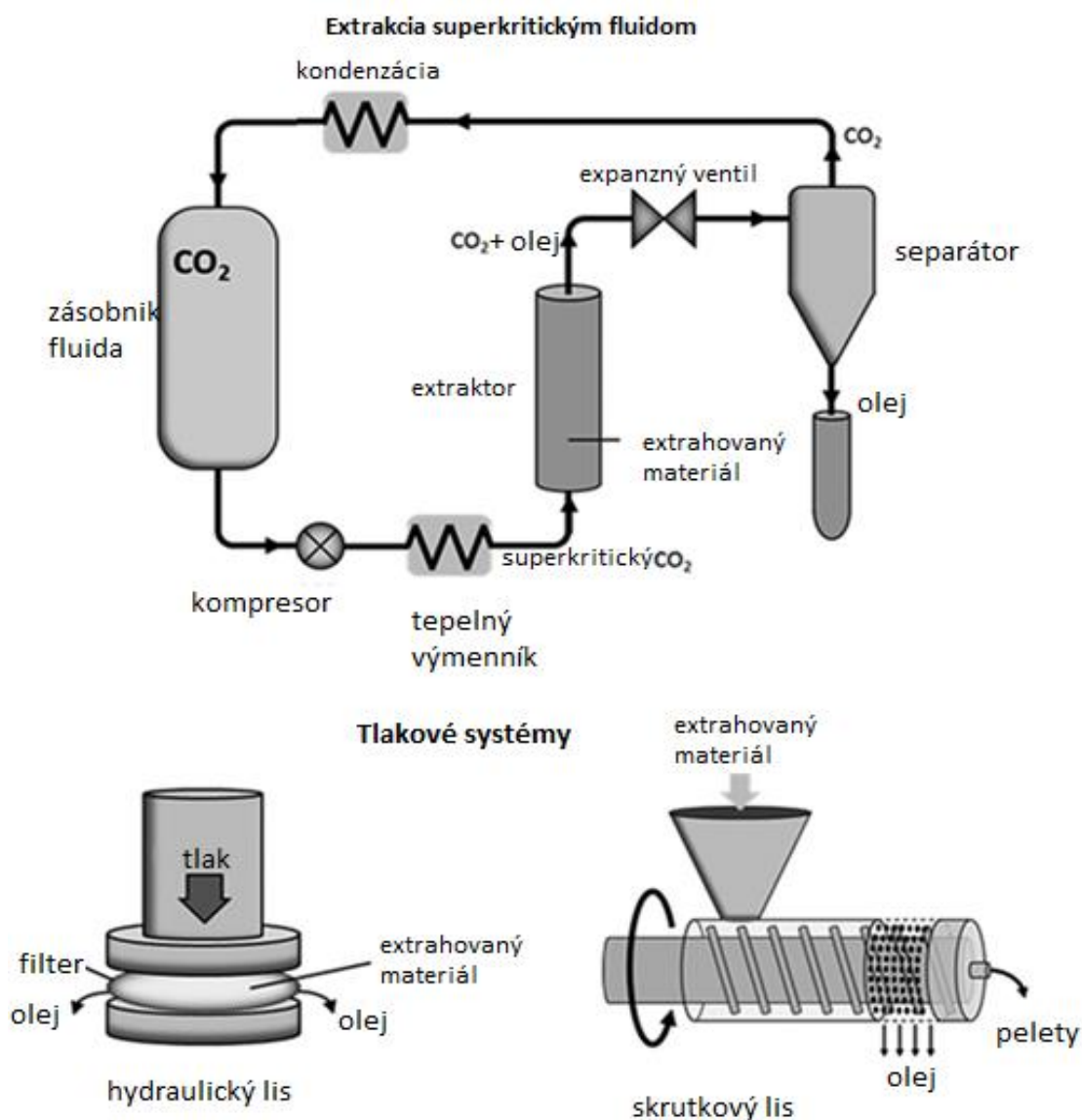
*a = zlúčenina bola identifikovaná, b = potvrdená aromatická aktivita, L = [86], S = [85]*

### 2.5.2.2 Výroba

Pistáciový olej sa vyrába tromi spôsobmi: extrakcia pomocou organického rozpúšťadla, extrakcia pomocou superkritickej tekutiny a mechanická extrakcia tlakom (Obrázok 5) [32].

Pri extrakcii pomocou organického rozpúšťadla sa využívajú nepolárne látky ako sú n-hexan, petroleter, dichlormetán alebo etyl acetát. Podľa použitého rozpúšťadla a metódy

(Soxhlet alebo macerácia) sa môže obsah MK v oleji líšiť. Takto získaný olej sa však nemôže nazývať panenský, pretože na jeho extrakciu bolo použité organické rozpúšťadlo, ktoré môže zanechávať nepríjemné pachy a chute v oleji. Tento proces dosahuje najvyšších výťažkov no vyextrahovaný olej nedosahuje dostatočnú kvalitu pre použitie v potravinárskom priemysle [32].



Obrázok 5 Metódy extrakcie oleja z pistácií [prevzaté z: 32]

Superná kritická fluidná extrakcia je založená na použití rozpúšťadla, ktoré pri určitej teplote a tlaku dosiahne kritický bod, nad ktorým je súčasne prítomná plynná aj kvapalná fáza. Najčastejšie používaným rozpúšťadlom je CO<sub>2</sub>, pretože je s ním možné bezpečné manipulovanie a taktiež sa dá ľahko odstrániť z produktu jednoduchou expanziou na atmosférický tlak. Výhodou superná kritickej tekutiny je aj nízka viskozita a vysoká hodnota difúzie, čo umožňuje prenikanie do poréznych tuhých materiálov efektívnejšie ako tekutému rozpúšťadlu. Extrakcia pomocou superná kritickej tekutiny sa preukázala ako vhodná technika na získanie bioaktívnych látok alebo éterických olejov z rastlinných zdrojov, ktoré nájdu uplatnenie

v potravinárskom, farmaceutickom či kozmetickom priemysle. Pre extrakciu oleja z pistácií už boli vyvinuté a optimalizované metódy, ktoré dosahujú podobných výťažkov, no lepších kvalít oleja ako pri extrakcii Soxhletom [40, 41].

V súčasnosti sa na výrobu orechových olejov používajú najmä mechanické metódy. Takto získané oleje dosahujú najvyššiu kvalitu a môžu sa považovať za panenské. Existujú dva možné spôsoby výroby: použitie skrutkového alebo hydraulického lisu. Oba spôsoby sa považujú za metódy studenej extrakcie, no pri použití skrutkového lisu môže teplota oleja dosiahnuť 40 až 50 °C v dôsledku trenia pistácií počas procesu, čo môže viesť k charakteristickým zmenám oleja – oleje vykazujú mierne zvýšenie kyslosti, peroxidového čísla a zhoršenie oxidačnej stability. Ak sa pri extrakcii použijú nižšie teploty, výsledkom je žltý olej s vôňou prírodných pistácií. Keď teplota počas procesu extrakcie, alebo pri predchádzajúcich operáciách, akými sú sušenie či praženie, prekročí 70 °C, získaný olej bude mať zelenú farbu a zvýši sa intenzita vône a chuti. Preto je pred extrakciou vhodné ošetrenie pražením, aby sa zlepšili senzorické vlastnosti oleja [32, 42].

### **2.5.2.3 Použitie**

V Európe je, kvôli vysokej trhovej cene, pistáciový olej málo používaný. Okrem zdravotných benefitov je tento olej výnimočný aj zo senzorického hľadiska. Farba oleja sa môže líšiť od žltej až po sýto zelenú, v závislosti od použitej metódy extrakcie a predchádzajúcich operácií sušenia či praženia. Taktiež jeho chuť môže variovať od prírodnej až po praženú, v závislosti na predchádzajúcich krokoch. Produkcia oleja z pistácií môže byť optimálnym riešením pre využitie plodov, ktoré nemajú potrebnú kvalitu na priamu spotrebu (poškodené či ináč znehodnotené jadrá), a tak sa tieto plody spracujú na vysoko hodnotný produkt [32].

Pistáciový olej je vhodný na kulinárske použitie, najmä vďaka jeho intenzívnej pistácievej vôni sa používa ako dressing na šaláty či dusenú zeleninu. Rovnako sa môže použiť ako náhrada masla či margarínu v cukrovinkách, no jeho zloženie ho nerobí vhodným na prípravu vyprážaných či dusených pokrmov [32].

Tento olej je cennou surovinou aj pre kozmetický priemysel, kde sa používa na výrobu mydiel, krémov, šampónov a ďalších kozmetických výrobkov s priaznivými účinkami na pokožku a vlasy vďaka jeho chemickému zloženiu. Olej z pistácií je bohatý na bioaktívne látky s antioxidačnými a protizápalovými účinkami, ktoré sa po ich extrakcii z oleja dajú vhodne využiť vo farmaceutickom priemysle [43].

## **2.6 Použité metódy a experimentálne techniky**

### **2.6.1 Stanovenie mastných kyselín**

Stanovenie MK sa skladá z niekoľkých krokov: extrakcia tukov, esterifikácia - prevedenie na metylestery ktoré sú ako vysokoprchavé a nízkopolarne zlúčeniny ideálnou formou pre stanovenie, a nakoniec vlastné stanovenie, najčastejšie pomocou plynovej chromatografie.

### **2.6.1.1 Extrakcia lipidov z matrice vzorky**

Pred samotným stanovením MK je potrebné ich extrahovanie z matrice potraviny. V súčasnej dobe poznáme viacero spôsobov extrakcie tukov. Konkrétna metóda extrakcie sa volí podľa matrice potraviny. Medzi najbežnejšie metódy patrí extrakcia pomocou vhodného rozpúšťadla. Tieto metódy sú účinné avšak ich nevýhoda je v tom, že sú náročné na čas a majú relatívne vysokú spotrebu rozpúšťadiel. Vzniká pritom veľké množstvo organického odpadu. Ďalším dôležitým parametrom pri extrakcii je teplota. Pri vyšších teplotách môže dochádzať k enzymatickému alebo neenzymatickému štiepeniu analytu [44, 45].

### **2.6.1.2 Esterifikácia masných kyselín**

Najčastejšie sa pre stanovenie masných kyselín používa plynová chromatografia (GC). Táto metóda vyžaduje aby bol stanovovaný analyt v plynnom skupenstve. Z tohto dôvodu sa masné kyseliny esterifikujú, keďže aj voľné aj viazané MK nie sú dostatočne prchavé. Prevažne sa MK derivatizujú na metyl-, etyl-, propyl-, butyl- a izobutyl- estery, z ktorých je najbežnejší metylester. Metylestery masných kyselín (MEMK) majú radu výhod, medzi ktoré patrí aj najvyššia prchavosť zo všetkých esterov alebo veľká reakčná rýchlosť [46, 47].

Esterifikácia môže prebiehať dvomi spôsobmi: kyslo alebo bázicky katalyzovaná. Pri kyslo katalyzovanej reakcii sa ako katalyzátory používajú HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, AlCl<sub>3</sub> alebo BF<sub>3</sub> v prostredí bezvodého metanolu. Pre zvýšenie účinnosti sa reakčná zmes zahrieva pod spätným chladičom po dobu až niekoľkých hodín. Výsledkom tejto reakcie je premena ako viazaných tak aj voľných MK na metylestery. Bázicky katalyzovaná esterifikácia prebieha pri miernejších podmienkach, v roztoku hydroxidu sodného alebo draselného v metanole. Pri tejto transesterifikácii voľné MK nereagujú, preto sa táto metóda hodí na stanovenie viazaných masných kyselín [46, 48].

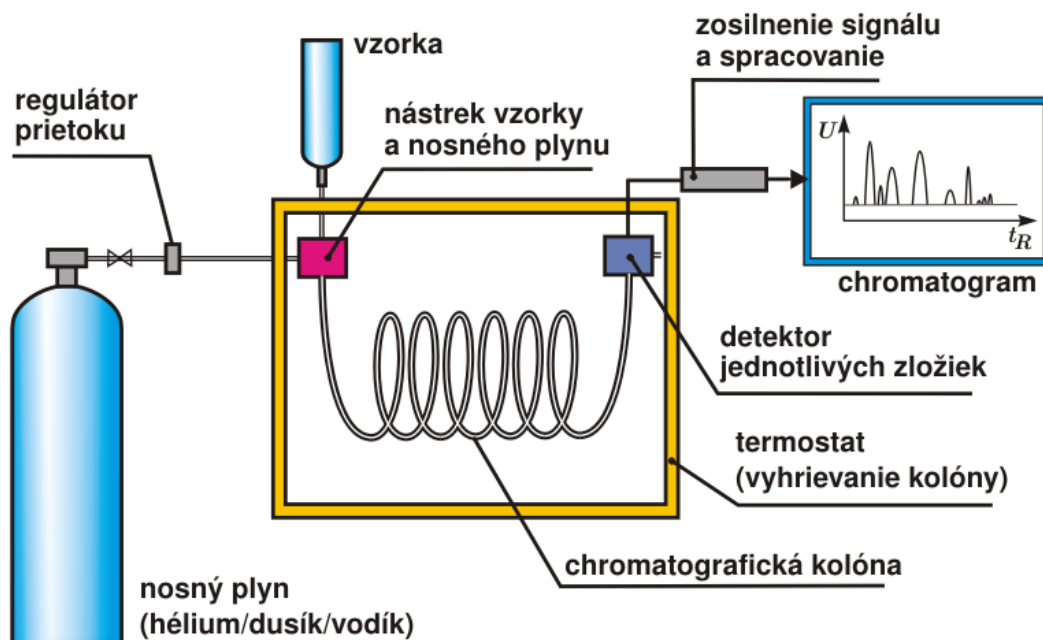
### **2.6.1.3 Plynová chromatografia**

Plynová chromatografia je separačná analytická metóda, ktorá je používaná pre stanovenie rôznych plynných látok. Princípom je delenie analytu na základe jeho afinity medzi pohyblivou a stacionárnou fázou. Ako už názov sám napovedá, pohyblivú, teda mobilnú fázu tvorí nosný plyn. Tento plyn by mal byť inertný, aby nereagoval so separovanou vzorkou. Najčastejšie sa používa dusík, vodík, hélium či argón. Stacionárnu fázu tvorí pevný sorbent alebo kvapalina nanosená v tenkej vrstve na pevný nosič [49, 50]. Schematický náčrt plynového chromatografu je na Obrázok 6.

Plynový chromatograf sa skladá z týchto častí [54]:

- Zdroj nosných plynov
- Zariadenie pre reguláciu a meranie nosných plynov
- Dávkovač
- Kolóna
- Termostat
- Detektor
- Vyhodnocovacie zariadenie

V tejto práci bola použitá kolóna s vysoko polárnou stacionárnou fázou (polyetylenglykol) a plameňovo ionizačný detektor (FID – Flame Ionization Detector), ktorý je pre stanovenie MK najvhodnejší [54-57], ako je zrejmé z nižšie citovaných prác.



Obrázok 6 Schéma plynového chromatografu [prevzaté z: 53]

Danish a kol. [58] použili vo svojej práci, zameranej na charakterizáciu ľanového oleja, metódu GC-FID. Pred samotným stanovením MK v oleji bola použitá kyslá esterifikácia pomocou  $\text{BF}_3$  v metanole. Celkovo v oleji stanovili 13 rôznych MK. Obdobná metóda analýzy MK vo vzorkách syrových analógov bola použitá aj v práci Ziodou a kol. [31], no v tomto prípade bola použitá bázičky katalyzovaná esterifikácia tuku. Stanovovaním MK v pistáciovom a mandľovom oleji sa zaoberali aj Givianrad a kol. [37]. Po esterifikácii oleja použili na analýzu metódu GC-FID, so zistením, že pistáciový olej je oveľa bohatší na zastúpenie jednotlivých MK, ako olej mandľový. Lobos-Ortega a kol. [59] použili na stanovenie CLA vo vzorkách syrov, vyrobených z mlieka rôznych živočíchov (kravské, ovčie, kozie), taktiež metódu GC-FID. Syry vyrobené z ovčieho mlieka vykazovali najvyššie koncentrácie CLA.

### 2.6.2 Stanovenie aromaticky aktívnych látok

Medzi kľúčové charakteristiky, ktoré určujú kvalitu syrov (resp. syrových analógov) a prijatie spotrebiteľom, je ich chuť a vôňa. Je obecné známe, že profil prchavých látok odráža vôňu a arómu syrov. Unikátna chuť rôznych druhov syrov je výsledkom rovnováhy medzi prchavými a neprchavými zlúčeninami, ktoré sú jedinečné pre každý výrobok. Chuť a aróma vznikajú počas procesu dozrievania z tukov, bielkovín a sacharidov [60, 61]. Ich stanovenie opäť zahŕňa izoláciu z matrice vzorky a následne vlastné stanovenie, najčastejšie pomocou plynovej chromatografie, často v spojení s hmotnostnou detekciou.



### **2.6.2.1 Izolácia aromaticky aktívnych látok**

Na izoláciu AAL zo syrov (resp. syrových analógov) sa môže použiť viacero metód. Bežne používané metódy ako parná destilácia, extrakcia rozpúšťadlom, zachytenie prchavých látok na adsorbente či kombinácie týchto metód s inými technikami nie sú príliš praktické kvôli časovej náročnosti, veľkej spotrebe rozpúšťadiel a vzoriek pred samotnou chromatografickou separáciou. Ideálna izolačná technika by mala byť rýchla, jednoduchá, lacná a kompatibilná pre použitie s rôznymi analytickými prístrojmi. Medzi vhodné techniky sa zaradzujú mikroextrakcia pevnou fázou (Solid Phase Microextraction – SPME), simultánná destilácia a extrakcia či headspace (HS) analýza [62, 63]. Pre stanovenie AAL v tejto diplomovej práci bola použitá metóda HS-SPME-GC-MS.

### **2.6.2.2 Mikroextrakcia pevnou fázou (Solid Phase Microextraction – SPME)**

SPME patrí medzi rýchle, výkonné, lacné a účinné extrakčné metódy bez použitia rozpúšťadla a zo spotrebou malého množstva vzorky. Je použiteľná na stanovenie rôznych aromatických zlúčenín v potravinách, keďže sa ňou dajú stanoviť polárne aj nepolárne zlúčeniny v rozličných skupenstvách [53, 62].

Princípom SPME je extrakcia prchavých látok zo vzorky do malého množstva extrakčnej fázy, ktorá je zakotvená na kremennom vlákne. Po uplynutí extrakčnej doby (15 – 20 minút) sa zachytené analyty desorbujú priamo v injektore GC vplyvom vysokej teploty – 300 °C – a prúdom nosného plynu sú vnesené na kolónu. Medzi faktory, ktoré ovplyvňujú extrakciu, patria: typ vlákna, doba extrakcie, pH vzorky a extrakčná teplota [53, 62].

Delgado a kol. [60] stanovovali AAL pomocou metódy SPME/GC-MS vo vzorkách španielskeho mäkkého syru z ovčieho mlieka. Celkovo stanovili 46 zlúčenín, z ktorých mali najväčšie zastúpenie mastné kyseliny, estery, alkoholy, aromatické zlúčeniny, aldehydy a ketóny. Guillén a kol. [64] identifikovali vo vzorkách údeného kozieho syra metódou SPME-GC-MS viac ako 320 zlúčenín. Okrem zlúčenín ako MK, alkoholy, estery, aldehydy, ketóny, deriváty furanov a pyranov, éterov či dusíkatých derivátov sa v syre nachádzali aj typické dymové zlúčeniny ako sú deriváty fenolov. Noronha a kol. [65] použili metódu SPME-GC na stanovenie MK s krátkym reťazcom, ktoré sú tiež zodpovedné za aromatický profil, vo vzorkách imitácií syra.

### **2.6.2.3 Plynová chromatografia s hmotnostnou spektrometriou**

Hmotnostná spektrometria (MS) je separačná technika, ktorá delí analyty v ionizovanej plynnej fáze na základe podielu ich hmotnosti a náboja  $m/z$ . Hlavný problém pri spojení týchto dvoch techník je ich tlaková nekompatibilita. Tlak na výstupe z GC je približne atmosférický, zatiaľ čo iónové zdroje a samotné separátory pracujú za vysokého vákua. Spojením týchto techník sa výrazne zvyšuje selektivita a možnosť identifikácie látok v zložitej matrici. Výstupný záznam sa nazýva hmotnostné spektrum. Jedná sa o nespojitý záznam, ktorý dokáže identifikovať analyzovanú látku na základe jej charakteristického spektra [53, 66].

Panseri a kol.[67] použili metódu GC-MS na identifikáciu AAL z talianskeho horského syra. Najväčšie zastúpenie mali aldehydy nasledované ketónmi, ďalej MK,



alkoholy, terpény a uhľovodíky. Poveda a kol. [68] skúmali polotvrde kozie syry z rôznych oblastí španielska. Pomocou metódy GC-MS identifikovali 50 rôznych prechavých látok, medzi nimi aj MK s krátkymi reťazcami, ketóny, alkoholy či estery. Obdobné postupy pri stanovení AAL pomocou kombinácie metód SPME-GC-MS v syroch či syrových analógoch využili aj Zoidou a kol. [31], Delgado a kol. [60] či Guillén a kol. [64].

### **2.6.3 Elektrónová mikroskopia**

Pre lepšiu charakterizáciu celkovej senzorickej kvality modelových vzoriek analógov bola, vedľa hlavného cieľu – stanovenie MK a AAL ako podstaty vône a chuti, venovaná pozornosť aj ich textúre, resp. mikroštruktúre s využitím elektrónovej mikroskopie.

V elektrónovej mikroskopii, na rozdiel od optickej, sa na získanie obrazu vzorky využíva prúd urýchlených elektrónov. K fokusácii obrazu sú využité elektromagnetické šošovky, ktoré ohýbajú prúd elektrónov pomocou elektromagnetického poľa, obdobným spôsobom ako klasické optické šošovky ohýbajú lúč svetla. Aby sa zabránilo interakcii prúdu elektrónov s atmosférou, ktorá by ovplyvňovala ich trajektóriu, musí byť pozorovaný objekt umiestnený vo vákuu. Jednou z hlavných charakteristík mikroskopov je medzná rozlišovacia schopnosť, ktorá je úmerná vlnovej dĺžke použitého žiarenia. Pri použití viditeľného svetla, s vlnovou dĺžkou 400 – 700 nm, je možné rozpoznať objekt s minimálnou veľkosťou okolo 200 nm. Elektrónové žiarenie používané v elektrónových mikroskopoch dosahuje vlnovú dĺžku približne 0,01 – 0,001 nm, to umožňuje pozorovať objekty až na atomárnej úrovni s mnohonásobným rozlíšením [87].

#### **2.6.3.1 Mikroštruktúra syrov a syrových analógov**

Syr je komplexný, viacfázový koloidný systém, ktorého mikroštruktúra vychádza z bilancie molekulárnych interakcií medzi jednotlivými zložkami. Práve táto bilancia dodáva syru jeho charakteristické vlastnosti [76].

V posledných rokoch, s vývojom elektrónovej mikroskopie, je venovaná pozornosť aj sledovaniu mikroštruktúry syrov a syrových analógov. Na sledovanie mikroštruktúry sa dá použiť niekoľko techník, ako napríklad laserová konfokálna mikroskopia, transmisná elektrónová mikroskopia či v súčasnosti najviac používaná skenovacia elektrónová mikroskopia [77].

Abd El-salam [78] sledoval pomocou elektrónovej skenovacej mikroskopie rozdiely v mikroštruktúre syrových analógov vyrobených s prídavkom slnečnicového oleja a/alebo srvátkového proteínového koncentrátu. Vzorka vyrobená len s prídavkom slnečnicového oleja vykazovala kompaktnú sieť s rovnomerne veľkými kvapkami oleja v proteínovej matici. Rovnomernému rozptýleniu napomohol homogenizačný krok pred samotnou výrobou syra. Vzorka vyrobená len s prídavkom srvátkového proteínového koncentrátu mala kompaktnú proteínovú maticu. Pravdepodobne došlo k interakcii medzi srvátkovým proteínom a kazeínovými reťazcami. Tak sa vytvorila homogénna proteínová matica. Vzorky vyrobené kombináciou oleja a koncentrátu vykazovali aj kombinované štruktúry s vlastnosťami predchádzajúcich vzoriek. El-Aidie a kol. [79] sledovali mikroštruktúrne zmeny pomocou skenovacej elektrónovej mikroskopie pri výrobe nízkotučného syru typu

Edam. Ako náhradu tuku použili tri komerčne dostupné proteínové náhrady tuku. Vzorky vyrobené s proteínovou náhradou vykazovali určité zmeny v mikroštruktúre oproti kontrolnej vzorke vyrobenej bez prídavku náhrad. Najmenšie rozdiely a najlepšie dosiahnuté požadované vlastnosti poskytla vzorka vyrobená s prídavkom produktu s obchodným názvom Simplese®100.

#### **2.6.4 Senzorická analýza**

Hodnotenie potravín bezprostredne ľudskými zmyslami, vrátane spracovania výsledkov ľudským centrálnym nervovým systémom sa nazýva senzorická analýza. Jedná sa o pomerne mladý vedecký odbor, ktorý zaručuje objektívne, presné a reprodukovateľné meranie kvality potravín [69].

Senzorická analýza patrí do skupiny psychometrických metód, pretože sa ňou stanoví príjemnosť či intenzita vnemu, nie koncentrácia senzorickej aktívnej látky či zloženie potravín. Senzorické hodnotenie potravín patrí medzi najstaršie spôsoby kontroly kvality, ktoré si, napriek súčasnému vysokému stupni rozvoja analytických metód kontroly kvality, udržalo svoje miesto v každodennej praxi potravinárskeho priemyslu [70].

Okrem zmyslových vnemov ako sú chuť, čuch, zrak, sluch či hmat majú na senzorické hodnotenie vplyv aj súčasne skúsenosti, emócie a pocity hodnotiteľa. Výsledok je teda ovplyvnený aj tým, ako sa hodnotiteľ cíti, či je unavený alebo má zhoršený zdravotný stav, citlivosťou jeho zmyslov, vekom, pohlavím, skúsenosťami a okolím. To všetko sú dôvody nato, aby sa vytvorili také podmienky hodnotenia, aby boli čo najviac odstránené rušivé vplyvy. Ich odstránenie zabezpečí zlepšenie presnosti stanovenia, zvýši možnosť reprodukovateľnosti hodnotenia a dosiahnutie reprezentatívnych výsledkov. Medzi tieto podmienky patria požiadavky na vybavenie senzorickej laboratória (norma ČSN ISO 8589), riady a spôsob servírovania, schopnosti hodnotiteľov, dĺžka a samotná technika senzorickej hodnotenia [69, 71, 72].

##### **2.6.4.1 Metódy senzorickej analýzy**

Vhodná metóda senzorickej analýzy sa volí podľa cieľa, ktorý chceme dosiahnuť, podľa kvality a kvantity hodnotiteľov, množstva vzoriek a ďalších faktorov. Ďalej sú uvedené hlavné typy metód, používaných pre senzorické hodnotenie potravín [72].

- **Metódy rozdielové**
  - cieľom je zistiť, či medzi predloženými vzorkami existuje rozdiel v senzorickej akosti alebo v niektorom jej znaku, príjemnosti či intenzite
- **Metódy poradové**
  - posúdenie poradovou metódou sa používa, ak je potrebné zistiť existenciu medzi väčším počtom vzoriek, úlohou hodnotiteľa je zoradiť vzorky podľa intenzity alebo príjemnosti skúmaného znaku
- **Hodnotenie porovnávaním so štandardom**
  - pri tejto metóde hodnotiteľ dostane štandard a má za úlohu určiť, či je neznáma vzorka totožná so štandardom alebo sa líši
  - okrem zistenia existencie rozdielu sa dá určiť aj jeho veľkosť
- **Hodnotenie použitím stupníc**
  - v praxi najpoužívanejšie metódy vďaka dobrému kvantitatívnemu vyjadreniu akostných rozdielov medzi vzorkami
  - pomocou nominálnych stupníc sa dá rozhodnúť, či sú dve hodnoty rovnaké alebo rozdielne
  - ordinálne stupnice umožňujú určiť tiež smer rozdielu – vytvoriť poradie, stupne môžu mať formu slovného popisu alebo formu číselného hodnotenia, kedy je nutné stupnicu orientovať
  - existujú aj intervalové a pomerové stupnice, tie sa však pri senzorickej analýze nepoužívajú
- **Magnitudové metódy**
  - využívajú jednoduché vyjadrenie výsledkov v pomerových stupňoch
  - dajú sa vyjadriť číselne alebo graficky
- **Metódy slovného popisu**
  - jedná sa o najstaršiu techniku v senzorickej analýze
  - hodnotiteľ sa môže voľne vyjadriť k hodnotenej vzorke, vyžaduje sa určitá skúsenosť a niekedy sa prikladá zoznam vhodných termínov
- **Profilové metódy**
  - používajú sa pre stanovenie charakteru chuti, vône a textúry
  - celkový vnem sa rozdelí na čiastkové vnemy – deskripty, pri ktorých sa určuje intenzita alebo príjemnosť
  - na základe hodnotenia niekoľkých vlastností sa stanoví senzorický profil potraviny

V rámci tejto práce bolo použité jednoduché porovnanie so štandardom, podobne ako v práci Ye a kol. [73], a hodnotenie pomocou stupníc [74, 75].

Ye a kol. [73] študovali analógy tavených syrov obohatených rybácim tukom. Dvanásťčlenný senzorický panel hodnotil pomocou sedemstupňovej hedonickej stupnice: 0 = bez rozdielu od referenčnej vzorky, 7 = značný rozdiel od referenčnej vzorky. Referenčná vzorka neobsahovala rybací tuk. Medzi vzorkami s nízkym obsahom rybacieho tuku, vzorkami s prídavkom rybacieho tuku vo forme emulzie a referenčnou vzorkou sa nezistili

významné rozdiely. Rybacia chuť sa však zistila pri vzorkách, kde bol tento tuk pridaný priamo pri výrobe. House a kol. [74] hodnotili syr Čedar s panelom jedenástich hodnotiteľov. Ich úlohou bolo vytvoriť zoznam deskriptorov na popis flavouru syru. Ako najdôležitejšie deskripty hodnotitelia uvádzali chuť orechovú, smotanovú, zemitú, maslovú a „zápach potu“. Intenzity sa hodnotili pomocou stupníc. Zistilo sa, že maslovú a smotanovú chuť ovplyvňuje kyselina propánová, zemitú kyselina octová a orechovú kyselina pentánová. Poklesom koncentrácie týchto kyselín sa deskripty stali menej intenzívnejšími. Ryffel a kol. [75] použili profilový test pre vzorky kozieho a ovčieho syru. Z oboch druhov syrov boli vybrané dva vzorky s rozdielnou intenzitou arómy. Profilovým testom sa zistilo, že vyššia intenzita iných vôní môže maskovať koziu a ovčiu arómu syra. Intenzívnejšia vzorka kozieho syru mala výrazne silnejšiu arómu, nižšiu slanosť a taktiež bola menej pevná, krehká, piesčitá a výrazne vlhšia ako vzorka s menej intenzívnou arómou. Intenzívnejšia vzorka ovčieho syru dopadla v testoch obdobne ako vzorka z kozieho syru.

### 3 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

#### 3.1 Laboratórne vybavenie

##### 3.1.1 Prístroje

- Plynový chromatografTRACE™ GC 2000 (ThermoQuest Italia S. p. A, Taliansko) s plameňovo-ionizačným detektorom
- Plynový chromatografTRACE™ 1310 (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Hmotnostný detektor ISQ™ LT Single Quadrupole (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Knižnica spektier NIST/EPA/NIH, verzia 2.0 (Gaithersburg, Maryland, USA)
- Analytické digitálne váhy GR-202-EC, HELAGO, Taliansko
- Vodná kúpeľ so stojanmi, Julabo TW 2, Nemecko
- Vyhrievacie hniezdo 100 ml, Brnenská Drutěva v. d., Česká republika
- Vákuová rotačná odparka, KIKA®-WERKE-RVO6-ML, Nemecko
- Počítač PC, Intel Pentium Procesor
- Chladnička s mrazákom ERB nerez, Elektrolux, Švédsko

##### 3.1.2 Plyny

- Hélium 4.8 v tlakovej nádobe s redukčným ventilom (SIAD, Česká republika)
- Dusík 5.0 v tlakovej nádobe s redukčným ventilom a kovovou membránou (SIAD, Česká republika)
- Vodík 5.5 v tlakovej nádobe s redukčným ventilom (SIAD, Česká republika)
- Vzduch 5.0 v tlakovej nádobe s redukčným ventilom pre kyslík (SIAD, Česká republika)

##### 3.1.3 Pracovné pomôcky

- SPME vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30 µm (Supelco, Bellefonte, PA, USA)
- Vialky (objem 10 ml) so závitovým magnetickým uzáverom
- Automatická mikropipeta 100-1000 µl, labopette®, Nemecko
- Bežné laboratórne sklo a pomôcky
- Nôž, strúhadlo, lopárík
- Vialky

##### 3.1.4 Chemikálie

- Kyselina chlorovodíková 35 % p. a., PENTA, Česká republika
- Etanol 96 % p. a., Lach-Ner, Česká republika
- Dietyler p. a., Lach-Ner, Česká republika
- Petroleter p. a., Lach-Ner, Česká republika
- Hydroxid sodný p. a., Lach-Ner, Česká republika
- Metanol p. a., Lach-Ner, Česká republika
- Bortrifluorid (metanolícky roztok 10 %) p. a., SIGMA-ALDRICH, Nemecko

- Izooktan p. a., PENTA, Česká republika
- Síran sodný (bezvodný) p. a., Lach-Ner, Česká republika
- Hexan p. a., Lach-Ner, Česká republika
- Zmiešaný štandard metylesterov mastných kyselín, Supelco<sup>TM</sup> 34 Component FAME Mix, SIGMA-ALDRICH, Nemecko

### 3.2 Analyzované vzorky

V experimentálnej časti diplomovej práce boli analyzované modelové vzorky prírodných syrov a syrových analógov eidamského typu, ktoré boli vyrobené konvenčným technologickým postupom (viď kapitola 2.1.5) behom novembra 2019 – januára 2020 na Mendelovej Univerzite v Brne.

Celkom boli vyrobené dve vzorky (Tabuľka 9). Prvá (vzorka A), slúžiaca ako kontrola, bola vyrobená bez prídavku rastlinného oleja. Druhá (vzorka D) bola vyrobená s prídavkom vybraného rastlinného oleja (pistáciový), zakúpeného v bežnej tržnej sieti.

Po dvojmesačnom dozrievaní boli vzorky zamrazené (-18 °C) a uchované pri týchto podmienkach do doby analýzy.

*Tabuľka 9 Označenie a vybrané parametre modelových vzoriek*

Označenie vzorky	Použitý rastlinný olej	Sušina [%]	Tuk v sušine [%]
A	Bez oleja (kontrola)	68,2 ± 0,6	54,0 ± 0,4
D	Pistáciový	76,0 ± 0,3	56,3 ± 0,2

Pri senzorickej hodnotení boli modelové vzorky porovnávané so štandardom, tj. komerčne dostupný syr Eidam 30 % tvs., 49 % sušiny.

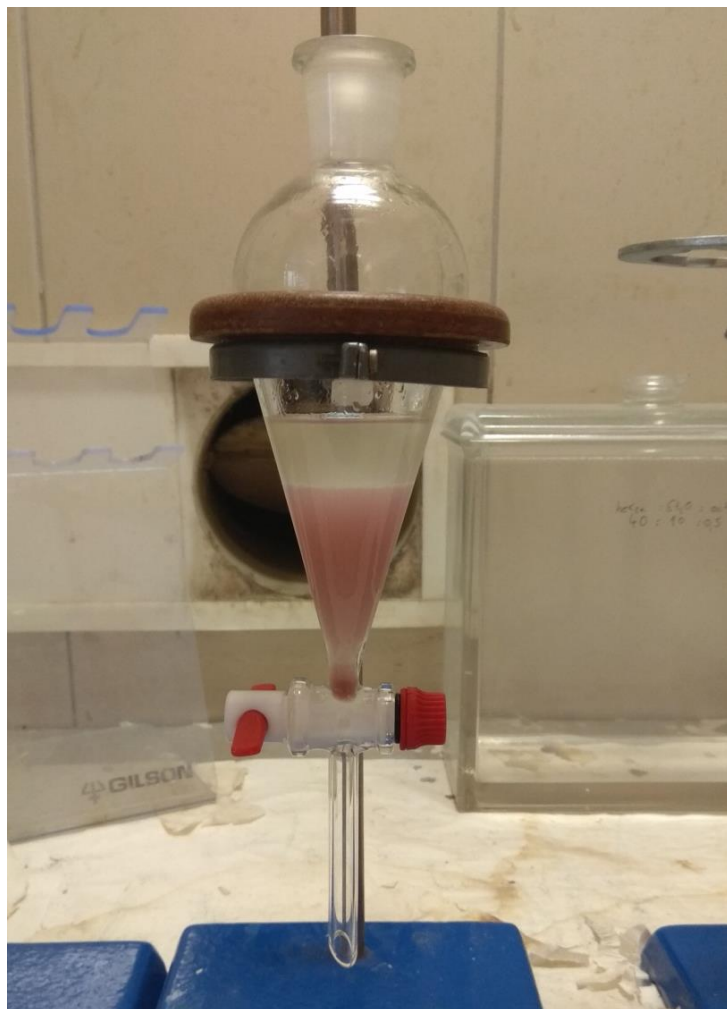
### 3.3 Použité metódy pre stanovenie mastných kyselín

Pre identifikáciu a kvantifikáciu voľných a viazaných MK v modelových vzorkách syrov, resp. syrových analógov boli MK vo vyizolovanom tuku najprv prevedené esterifikáciou na MEMK a následne podrobené analýze pomocou GC-FID.

#### 3.3.1 Extrakcia lipidov zo vzoriek syra podľa ČSN EN ISO 1735

Do 25 ml Erlenmayerovej banky sa navážil 1 g syru resp. syrového analógu s presnosťou na desatinu miligramu. Následne sa pridalo 5 ml kyseliny chlorovodíkovej a zmes sa zahrieva vo vodnej kúpeli po dobu desiatich minút s občasným premiešaním. Počas temperácie sa vzorka úplne rozložila a celá zmes sa sfarbila do fialova. Zmes sa schladila pod prúdom tečúcej vody a kvantitatívne sa previedla do deliaceho lieviku pomocou 5 ml etanolu. K zmesi sa následne pridalo 9 ml dietyléteru a 9 ml petroléteru, po každom prídavku rozpúšťadla sa zmes silno trepa po dobu najmenej 1 min. Po dôkladnom pretrepaní sa zmes nechala odstať približne 30 minút pri laboratórnej teplote kvôli oddeleniu fáz (viď Obrázok 7). Následne sa opatrne odobrala horná vrstva rozpúšťadiel do dopredu zvaženej destilačnej banky s guľatým dnom s objemom 100 ml. Nasledovali druhá a tretia extrakcia s obdobným postupom, ale s polovičným množstvom rozpúšťadiel (4,5 ml dietyléteru

a 4,5 ml petroléru). Po týchto extrakčných krokoch sa všetky extrakty spojili, rozpúšťadlo sa odparilo na vákuovej rotačnej odparke pri teplote 40 °C a následne sa extrakt zvažil s presnosťou na desatinu miligramu. Takto získaný tuk je možné pobiť priamo esterifikáciou.



Obrázok 7 Extrakcia lipidov, oddelené fázy

### 3.3.2 Príprava metylesterov mastných kyselín

Vyextrahovaný tuk bol podrobený kyslej esterifikácii pomocou  $\text{BF}_3$  ako katalyzátoru.

#### 3.3.2.1 Metóda kyslej esterifikácie pre triacylglyceroly

Do destilačnej banky sa k vyextrahovanému tuku pridal varný kamienok a 4 ml metanolickeho roztoku hydroxidu sodného ( $c = 0,5 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ), ktorý bol pripravený rozpustením 2 g hydroxidu sodného v 100 ml metanolu pri miernom ohreve, pričom takto pripravený metanolickeý roztok sa dá uchovávať v chlade po dobu maximálne 3 mesiacov. Obsah banky sa varil pod spätným chladičom do vymiznutia kvapiek tuku, teda približne 10 minút (s bankou sa pravidelne jemne krúžilo, aby nedochádzalo k usadzovaniu hydroxidu sodného na stene). Následne bolo cez horný koniec chladiča pridaných 5 ml metanolickeho roztoku bortrifluoridu a zmes sa varila ešte ďalších 20 minút. Potom sa rovnakým spôsobom pridali 3 ml izooktanu, var sa zastavil a po odstránení chladiča sa do zmesi pridalo približne 20 ml nasýteného roztoku chloridu sodného a obsah banky sa dôkladne pretrepal. Po ďalšom

prídavku roztoku chloridu sodného, ktorý spôsobil zvýšenie hladiny až po hrdlo banky, sa fáze nechali oddeliť behom približne 5 minút. Z hornej izooktanovej vrstvy sa odobralo 1 – 2 ml do 4 ml vialky a pre odstránenie stôp vlhkosti sa použilo malé množstvo bezvodného síranu sodného. Pre analýzu na CG-FID sa využil 1 ml pripraveného roztoku.

### **3.3.2.2 Metóda kyslej esterifikácie pre voľné mastné kyseliny**

Do destilačnej banky sa k vyextrahovanému tuku pridal varný kamienok a cez spätný chladič 5 ml metanolickeho roztoku bortrifluoridu. Po 3 minútach varu sa pridali 3 ml izooktanu, var sa zastavil a po odstránení chladiča sa do zmesi pridalo približne 20 ml nasýteného roztoku chloridu sodného a obsah banky sa dôkladne pretrepal. Po ďalšom prídavku roztoku chloridu sodného, ktorý spôsobil zvýšenie hladiny až po hrdlo banky, sa fáze nechali oddeliť behom približne 5 minút. Z hornej izooktanovej vrstvy sa odobralo 1 – 2 ml do 4 ml vialky a pre odstránenie stôp vlhkosti sa použilo malé množstvo bezvodného síranu sodného. Pre analýzu na CG-FID sa využil 1 ml pripraveného roztoku.

### **3.3.3 Podmienky stanovenia metylesterov mastných kyselín pomocou GC-FID**

- Plynový chromatograf TRACE™ GC (ThermoQuest Italia S. p. A) (Obrázok 8)
- Autosampler AI/AS 3000
- Kapilárna kolóna DB-WAX s rozmermi 30 m × 0,32 mm × 0,5 μm
- Nosný plyn: dusík, prietok 1 ml·min<sup>-1</sup>
- Vstup:
  - Teplota injektoru: 250 °C
  - Doba bezdeličového dávkovania: 1 minútu
  - Dávkovanie: autosampler bez deliča toku 1 μl (splitless)
- Teplotný program:
  - 50 °C 1 minútu
  - Vzostupný gradient 25 °C·min<sup>-1</sup> do 200 °C s výdržou 0 minút
  - Vzostupný gradient 3 °C·min<sup>-1</sup> do 230 °C s výdržou 30 minút
  - Celková doba analýzy: 47 minút
- Plameňovo-ionizačný detektor (FID):
  - Teplota detektoru: 250 °C
  - Prietok vzduchu: 350 ml·min<sup>-1</sup>
  - Prietok vodíka: 35 ml·min<sup>-1</sup>
  - Make-up dusíka: 30 ml·min<sup>-1</sup>





*Obrázok 8 Chromatograf TRACE™ CG + autosampler*

### **3.3.4 Identifikácia a kvantifikácia mastných kyselín**

Identifikácia jednotlivých MEMK z modelových vzoriek bola realizovaná na základe porovnávania retenčných časov separovaných zlúčenín s retenčnými časmi štandardov.

Kvantifikácia bola realizovaná výpočtom ich koncentrácie z plochy píku MEMK vo vzorke a známej koncentrácie a plochy píku štandardu. Parametre štandardov sú uvedené v Tabuľka 10.

Zastúpenie MK je vyjadrené v  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  vyextrahovaného tuku.

Tabuľka 10 Štandardy použité pre identifikáciu a kvantifikáciu MK

Názov MK	Skrátený zápis MK	T <sub>R</sub> [min]	c <sub>s</sub> [mg · ml <sup>-1</sup> ]	P <sub>s</sub> [mV · s]	Mr <sub>MEMK</sub> [g · mol <sup>-1</sup> ]	Mr <sub>MK</sub> [g · mol <sup>-1</sup> ]
Kyselina maslová	C4:0	<b>4,35</b>	0,04	<b>3125173</b>	102,133	88,106
Kyselina kapronová	C6:0	<b>5,59</b>	0,04	<b>3194222</b>	130,187	116,160
Kyselina kaprylová	C8:0	<b>6,75</b>	0,04	<b>4061317</b>	158,241	144,214
Kyselina kaprinová	C10:0	<b>7,88</b>	0,04	<b>4223169</b>	186,295	172,268
Kyselina undekanová	C11:0	<b>8,5</b>	0,02	<b>2210409</b>	200,322	186,295
Kyselina laurová	C12:0	<b>9,20</b>	0,04	<b>4640412</b>	214,349	200,322
Kyselina tridekanová	C13:0	<b>10,00</b>	0,02	<b>2365835</b>	228,376	214,349
Kyselina myristová	C14:0	<b>10,96</b>	0,04	<b>4953419</b>	242,403	228,376
Kyselina myristoolejová	C14:1 <sup>Δ9</sup>	<b>11,39</b>	0,02	<b>2366989</b>	240,387	226,360
Kyselina pentadekanová	C15:0	<b>12,08</b>	0,02	<b>2470555</b>	256,430	242,403
Kyselina <i>cis</i> -10-pentadecenová	C15:1 <sup>Δ10</sup>	<b>12,59</b>	0,02	<b>2447994</b>	254,414	240,387
Kyselina palmitová	C16:0	<b>13,41</b>	0,06	<b>8071065</b>	270,457	256,43
Kyselina palmitoolejová	C16:1 <sup>Δ9</sup>	<b>13,83</b>	0,02	<b>2520590</b>	268,441	254,414
Kyselina heptadekanová	C17:0	<b>14,92</b>	0,02	<b>2544888</b>	284,484	270,457
Kyselina <i>cis</i> -10-heptadecenová	C17:1 <sup>Δ10</sup>	<b>15,40</b>	0,02	<b>2489531</b>	282,468	268,441
Kyselina stearová	C18:0	<b>16,63</b>	0,04	<b>5174886</b>	298,511	284,484
Kyselina olejová	C18:1 <sup>Δ9</sup>	<b>17,06</b>	0,04	<b>9238057</b>	296,495	282,468
Kyselina linolová	C18:2 <sup>Δ9,12</sup>	<b>17,96</b>	0,02	<b>4897549</b>	294,479	280,452
Kyselina γ-linolenová	C18:3 <sup>Δ6,9,12</sup>	<b>18,62</b>	0,02	<b>2376273</b>	292,463	278,436
Kyselina α-linolenová	C18:3 <sup>Δ9,12,15</sup>	<b>19,38</b>	0,02	<b>2266846</b>	292,463	278,436
Kyselina arachová	C20:0	<b>21,08</b>	0,04	<b>4888960</b>	326,565	312,358
Kyselina <i>cis</i> -11-eikosenová	C20:1 <sup>Δ11</sup>	<b>21,71</b>	0,02	<b>2433557</b>	322,533	308,506
Kyselina <i>cis</i> -11,14-eikosadienová	C20:2 <sup>Δ11,14</sup>	<b>23,20</b>	0,02	<b>2504386</b>	322,533	308,506
Kyselina heneikosanová	C21:0	<b>24,18</b>	0,02	<b>4522345</b>	340,592	326,565
Kyselina <i>cis</i> -8,11,14-eikosatrienová	C20:3 <sup>Δ8,11,14</sup>	<b>24,99</b>	0,02	<b>2016421</b>	320,517	306,490
Kyselina arachidonová	C20:4 <sup>Δ5,8,11,14</sup>	<b>25,55</b>	0,02	<b>2213031</b>	318,501	304,474
Kyselina behenová	C22:0	<b>27,68</b>	0,04	<b>2046415</b>	354,619	340,592
Kyselina eikosapentaenová	C20:5	<b>28,27</b>	0,02	<b>4092799</b>	316,477	302,451
Kyselina eruková	C22:1 <sup>Δ13</sup>	<b>29,31</b>	0,02	<b>2010098</b>	352,603	338,576

Tabuľka 11 (pokračovanie) Štandardy použité pre identifikáciu a kvantifikáciu MK

Názov MK	Skrátený zápis MK	$T_R$ [min]	$c_s$ [mg · ml <sup>-1</sup> ]	$P_s$ [mV · s]	$Mr_{MEMK}$ [g · mol <sup>-1</sup> ]	$Mr_{MK}$ [g · mol <sup>-1</sup> ]
Kyselina <i>cis</i> -13,16-docosadienová	C22:2 <sup>Δ13,16</sup>	<b>31,84</b>	0,02	<b>1902903</b>	350,587	336,560
Kyselina trikosanová	C23:0	<b>33,46</b>	0,02	<b>1619779</b>	368,646	354,619
Kyselina lignocerová	C24:0	<b>40,90</b>	<b>0,4</b>	<b>21464940</b>	382,673	368,646
Kyselina nervonová	C24:1 <sup>Δ15</sup>	<b>42,08</b>	<b>0,2</b>	<b>7602600</b>	380,657	366,630
Kyselina <i>cis</i> -4,7,10,13,16,19-dokosaheptaenová	C22:6 <sup>Δ4,7,10,13,16,19</sup>	<b>42,64</b>	<b>0,2</b>	<b>6545812</b>	342,523	328,496

*MK* – masťná kyselina, *MEMK* – metylester masťnej kyseliny,  $T_R$  – retenčný čas *MEMK*,  $c_s$  – koncentrácia štandardov *MEMK*,  $P_s$  – plocha štandardov *MEMK*,  $Mr_{MEMK}$  – molekulová hmotnosť *MEMK*,  $Mr_{MK}$  – molekulová hmotnosť *MK*

### Výpočty:

Koncentrácia metylesteru masťnej kyseliny ( $c_{MEMK}$ ) v extrakte (vo vialke):

$$c_{MEMK} = \frac{c_s \cdot P_{MEMK}}{P_s} \quad (1)$$

- $c_{MEMK}$ .....koncentrácia *MEMK* v extrakte (vo vialke) [mg·ml<sup>-1</sup>]
- $P_{MEMK}$ .....plocha píku *MEMK* v extrakte [mV·s]
- $c_s$ .....koncentrácia štandardu [mg·ml<sup>-1</sup>]
- $P_s$ .....plocha píku štandardu [mV·s]

Prepočet metylesterov masťných kyselín na masťné kyseliny:

$$c_{MK} = \frac{c_{MEMK} \cdot Mr_{MK}}{Mr_{MEMK}} \quad (2)$$

- $c_{MK}$ .....koncentrácia *MK* v extrakte [mg·ml<sup>-1</sup>]
- $c_{MEMK}$ .....koncentrácia *MEMK* v extrakte [mg·ml<sup>-1</sup>]
- $Mr_{MK}$ .....molárna hmotnosť *MK* [g·mol<sup>-1</sup>]
- $Mr_{MEMK}$ .....molárna hmotnosť *MEMK* [g·mol<sup>-1</sup>]

Prepočet na pôvodný objem v banke:

$$m_{MK} = c_{MK} \cdot V$$

(3)

- $m_{MK}$ .....celková hmotnosť MK v banke [mg]
- $c_{MK}$ .....koncentrácia MK v extrakte [ $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]
- $V$ .....objem izooktanu [ml] (3 ml)

Koncentrácia MK v  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  tuku:

$$c_{\text{syr}} = \frac{m_{MK}}{m_{\text{tuk}}}$$

(4)

- $c_{\text{tuk}}$ .....koncentrácia MK vo vyextrahovanom tuku [ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ]
- $m_{\text{tuk}}$ .....hmotnosť vyextrahovaného tuku zo vzorky [g]

### 3.4 Použité metódy pre stanovenie aromaticky aktívnych látok

Pre identifikáciu a semikvantifikáciu AAL v modelových vzorkách bola použitá metóda headspace mikroextrakcie na pevnú fázu v spojení s plynovou chromatografiou s hmotnostnou detekciou (HS-SPME-GC-MS).

#### 3.4.1 Príprava vzoriek

Z čerstvých vzoriek sa na laboratórnej váhe s presnosťou na 1 desatiné miesto navážili 3 g vzorky do vialky so závitovým magnetickým uzáverom. Vzorky sa natlačili sklenenou tyčinkou aby sa zabránilo kontaktu vzorky s SPME vláknom. Následne sa vialky umiestnili do autosampleru na analýzu.

#### 3.4.2 Podmienky SPME extrakcie

- SPME vlákno: Supelco, Bellefonte, PA, USA
- Stacionárna fáza: Divinylbenzen/Carboxen/Polydimethylsiloxan (DVB/CAR/PDMS 50/30  $\mu\text{m}$ )
- Doba inkubácie (temperovania): 10 minút
- Doba extrakcie: 20 minút
- Teplota agitátoru (teplota extrakcie a inkubácie): 40 °C
- Agitátor zapnutý: 5 s
- Agitátor vypnutý: 60 s
- Množstvo vzorky: 3,0 g
- Hĺbka ponorenia vlákna do vialky: 20 mm

#### 3.4.3 Podmienky GC-MS analýzy

- Plynový chromatograf s hmotnostnou detekciou Thermo Scientific™ ISQ™ Series GC-MS System (TRACE™ 1310 Series Gas Chromatograph, ISQ™ LT Single Quadrupole Mass Spectrometer)
- Teplota desorpcie (teplota injektora): 240 °C
- Doba desorpcie: 20 minút

- Hĺbka ponorenia vlákna do injektoru: 40 mm
- Technika dávkovania: splitless (ventil uzavretý 10 minút)
- Nosný plyn: hélium
- Prietok nosného plynu: 1 ml·min<sup>-1</sup>
- Kapilárna kolóna: TG-WaxMS s rozmermi 30 m × 0,25 mm × 0,5 µm
- Teplotný program:
  - 40 °C 2 minúty
  - Vzostupný gradient 3 °C·min<sup>-1</sup> do 110 °C s výdržou 10 minút
  - Vzostupný gradient 3 °C·min<sup>-1</sup> do 200 °C s výdržou 0 minút
  - Celková doba analýzy: 65 minút
- Detektor: hmotnostný spektrometer
- Ionizácia plynnej fázy: elektrónová ionizácia
- Teplota iónového zdroja: 200 °C
- Typ analyzátoru: kvadrupólový analyzátor
- Skenovací rozsah m/z: 30 – 370 amu
- Rýchlosť skenovania: 0,2 s

#### **3.4.4 Identifikácia a kvantifikácia aromaticky aktívnych látok**

Identifikácia bola realizovaná na základe porovnávania hmotnostných spektier s dostupnou knižnicou spektier, obsah identifikovaných zlúčenín je vyjadrený semikvantitatívne pomocou plôch príslušných pík na chromatogramu.

### **3.5 Elektrónová mikroskopia**

Príprava vzoriek na analýzu prebehla v dvoch krokoch. Zo vzoriek syra a syrového analógu sa nožom odrezali tenké plátky približne zo stredu syrovej hrudy, ktoré sa následne nechali vysušiť pri izbovej teplote cez noc. Následne boli vzorky predané pracovníkovi firmy Thermo Fisher Scientific Brno s. r. o., kde prebehla ďalšia predúprava (pokovanie zliatinou Au/Pd 6:4 vo vákuovej komore) a samotné skenovanie v elektrónovom mikroskope Helios 5CX.

### **3.6 Senzorická analýza**

#### **3.6.1 Pracovné pomôcky**

- Petriho misky, tácka, obrúsky, písacie potreby
- Nôž, lopárik, poháre
- Chladnička s mrazákom

#### **3.6.2 Senzorické hodnotenie**

Na senzorické hodnotenie boli použité rovnaké vzorky, ako pre ostatné analýzy (Tabuľka 9). Senzorické hodnotenie prebehlo po dobe technologického dozrievania modelových vzoriek (konzumná zralosť). Vzorky sa nakrájali na kocky rovnakej veľkosti a po troch sa položili do Petriho misky označenej príslušným kódom. Následne, pred hodnotením, sa nechali temperovať na izbovú teplotu. Ako chuťový neutralizátor sa zvolila voda.

Hodnotiteľskú komisiu tvorila skupina 5 „expertov“ (3 ženy, 2 muži), z radov zamestnancov a študentov FCH VUT a MENDELU, ználych problematiky technológie výroby syrov a senzorického hodnotenia.

Hodnotil sa vzhľad a farba, textúra, vôňa, chuť a celková prijateľnosť vzorky. Boli použité párové metódy porovnávania so štandardom (komerčný Eidam 30 % tvs.), hodnotenie pomocou popisných stupníc a nakoniec jednoduché hedonické hodnotenie, kde mohli hodnotitelia vyjadriť svoj celkový dojem. Formulár pre senzorické hodnotenie je uvedený v prílohe 1.

### **3.7 Štatistické spracovanie výsledkov**

Dáta boli spracované a vyhodnotené pomocou programu MS Excel 2007. Každá vzorka bola analyzovaná zvlášť pre viazané MK, VMK a AAL a každá analýza bola realizovaná v 3 opakovaniach ( $n = 3$ ). Výsledky sú uvedené v tvare priemer  $\pm$  smerodajná odchylka, prípadne graficky, chybové úsečky vyjadrujú smerodajnú odchýlku merania.

Výsledky senzorickej analýzy sú prezentované graficky ako absolútna početnosť (tj. počet odpovedí v danej kategórii).

## 4 VÝSLEDKY A DISKUSIA

Táto práca je pilotnou časťou štúdie, ktorá sa bude zaoberať výrobou a následnou charakterizáciou modelových vzoriek syrových analógov.

Syrové analógy sú výrobky podobné syrom, v ktorých je niektorá mliečna zložka (tuk, bielkovina) nahradená zložkou rastlinného pôvodu [26]. Pre prvé experimenty bola vybraná jednoduchá a v praxi používaná varianta – náhrada mliečneho tuku rastlinným olejom. V praxi sa často používa, vzhľadom k jeho nízkej cene a ľahkej dostupnosti, palmový olej. Pre našu štúdiu však boli zvolené síce drahé, ale zato kvalitné, oleje orechové. Podstatou tejto práce bolo vyrobiť a charakterizovať syrový analóg s prídavkom vybraného orechového oleja. Hlavným cieľom produkcie týchto výrobkov je priniesť na trh potravinu, ktorá by dosahovala obdobných senzorických vlastností ako je to u syrov prírodných, no dosahovala by lepších nutričných vlastností vďaka použitým výrobným surovinám.

Práca prebiehala v spolupráci s Mendelovou Univerzitou v Brne, ktorá disponuje potrebným technologickým vybavením na výrobu syrov.

Podľa vyššie uvedenej klasifikácie (viď. Obrázok 3) sú vyrobené modelové vzorky vlastne „plnené syry“, no pre zjednodušenie sa budú v rámci tejto práce nazývať „analógy“.

### 4.1 Výroba modelových vzoriek

V rámci tejto práce boli vyrobené analógy syrov eidamského typu, s prídavkom orechového, konkrétne pistáciového, oleja. Zároveň bol, pre porovnanie, vyrobený syr bez prídavku oleja.

Zvolený pistáciový olej obsahuje veľké množstvo nenasýtených MK, predovšetkým kyselinu olejovú a linolovú. Rovnako obsahuje esenciálne  $\omega$ -3 MK, ktoré majú prospešný vplyv na správnu funkciu tkanív. Tento olej obsahuje aj veľké množstvo fenolických látok, ktoré vykazujú vysokú antioxidačnú aktivitu, za zmienku stojí aj vysoký obsah v tuku rozpustných vitamínov, jedná sa najmä o tokoferoly. V potravinárskej praxi sa často nestretávame s použitím tohto oleja, avšak, vďaka jeho výraznej chuti a aróme po pistáciách, sa používa predovšetkým ako doplnok chute k pokrmom, predovšetkým v studenej kuchyni. Širšie použitie nachádza v kozmetickom priemysle, práve kvôli vysokému obsahu antioxidantov [32, 33, 43].

Pri výrobe syrového analógu s použitím pistáciového oleja očakávame nie len zvýšenie obsahu nenasýtených MK ale tiež zvýšenie obsahu ďalších prospešných látok, akými sú vitamíny či antioxidanty. Vo všeobecnosti, použitie takto nutrične bohatého oleja by malo zvýšiť celkovú nutričnú hodnotu finálneho výrobku.

Syr a syrový analóg boli vyrobené konvenčným technologickým postupom (kap. 2.1.5). Pri výrobe bolo použité chymozínove syridlo a klasická mezofilná aromatická kultúra o zložení *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar

*diacetylactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*. Fotografie zo samotnej výroby modelových vzoriek sú na Obrázok 9 až Obrázok 11, na Obrázok 12 sú modelové vzorky v stave konzumnej zralosti.

Povrch vyrobených vzoriek bol ošetrený náterom na syry (Plasticoat) a syry boli ponechané dozrievať v klimatizovanom dozrievacom boxe (12 °C, 85 % vlhkosť) po dobu dvoch mesiacov, čo je v Česku obvyklá doba dozrievania syrov tohto typu.

Ochranný náter syrov behom dozrievania minimalizuje straty vysušením, čím by sa malo dosiahnuť lepších senzorických vlastností syrov. Navyše zabezpečuje barierové vlastnosti proti rastu plesní, zlepšuje vzhľad syru a zvyšuje ochranu proti mechanickému poškodeniu.



Obrázok 9 Zrážanie mlieka pomocou syridla

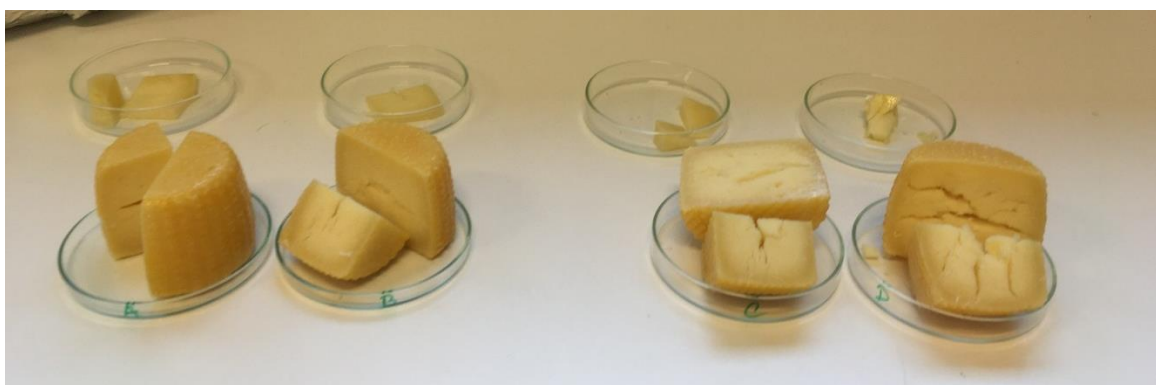


Obrázok 10 Rozkrájané syrové zrno





Obrázok 11 Modelové vzorky vo formách, pred lisovaním



Obrázok 12 Modelové vzorky po fáze dozrievania; zľava kódové označenie A–D, (A) – kontrolná vzorka, (D) – syrový analóg s pistáciovým olejom, ostatné vzorky (B, C) neboli súčasťou tejto práce

Vyrobené vzorky boli následne hodnotené z hľadiska senzorickej kvality, so zameraním predovšetkým sa chuť (flavour) a s ňou súvisiaci obsah aromatických látok. Pozornosť je samozrejme venovaná lipidom a MK ako dôležitým prekurzorom aromatických látok v syroch. Pre zaujímavosť bola sledovaná štruktúra pomocou elektrónového mikroskopu. Cieľom bolo zistiť, či prídavok oleja má (pozitívny/negatívny) vplyv na sledované parametre.

#### 4.2 Prchavé (aromatické) látky v modelových vzorkách syru a analógu

Pre stanovenie prchavých látok bola použitá metóda HS-SPME-GC-MS (viď kap. 3.4). Identifikácia aromatických látok bola realizovaná na základe porovnávania hmotnostných spektier s dostupnou knižnicou spektier. V Tabuľka 12 sú uvedené všetky

identifikované AAL vo vzorkách. Vzhľadom k miernym odchýlkam retenčných časov je v tabuľke uvedený priemerný retenčný čas ( $n = 6$ ) každej zlúčeniny, relatívna smerodajná odchýlka dosahovala hodnôt pod 1 %, čo sa dá považovať za výbornú reprodukovateľnosť.

#### 4.2.1 Prehľad identifikovaných prchavých látok vo vzorkách

Celkom bolo identifikovaných 37 AAL (Tabuľka 12), z toho 14 alkoholov, 6 esterov a kyselín, 4 ketóny, 3 aldehydy a po jednej látke z kategórie terpénov, sulfónov, furánov a dusíkatých zlúčenín. Ukážky chromatogramov sú uvedené v prílohe 2 a 3.

Všetky aromatické látky, ktoré sa bežne nachádzajú v eidamských syroch (kap. 2.3), sa dajú očakávať aj vo vyrobených vzorkách.

Obdobne ako v štúdiách Van Leuven a kol. [52] a Shiota a kol. [84], boli aj v našom prípade identifikované látky ako 1-butanol, 3-metyl-1-butanol, benzylalkohol, fenyletylalkohol či 2,3-butándiol. Tieto alkoholy sa spoločne podieľajú na aróme eidamských syrov. Z alkoholov obsiahnutých v pistáciovom oleji boli v oboch vzorkách identifikované: hexanol, okt-1-én-3-ol, fenyletylalkohol, avšak obsah týchto alkoholov je značne vyšší vo vzorke s pridaným olejom. Tieto alkoholy sa podarilo identifikovať aj týmom Sonmezdag a kol. [85] a Ling a kol. [86], u hexanolu potvrdili aj aromatickú aktivitu.

Aldehydov, ktoré sa podieľajú na aromatickom profile eidamských syrov, je mnoho, no v našom prípade sa podarilo identifikovať len tri, a to: hexanál, nonanál a 4-metoxibenzaldehyd. Hexanál a nonanál boli úspešne identifikované ako v aromatickom profile syrov [52, 80], tak aj v pistáciovom oleji [85, 86]. Tieto aldehydy majú taktiež potvrdenú aromatickú aktivitu [85]. 4-metoxibenzaldehyd nebol identifikovaný ani v jednej zo zmieňovaných štúdií, no úspešne bol identifikovaný benzaldehyd v štúdiách Van Leuven a kol. [52] a Ling a kol. [86], ktorý môže slúžiť ako prekursor pre vytvorenie 4-metoxibenzaldehydu.

Acetoin (3-hydroxy-2-butanón), 2,3-butandión a 2-heptanón boli úspešne identifikované, rovnako ako v štúdií Van Leuven a kol. [52]. Ich prítomnosť indikuje správnu funkciu mikroorganizmov pri vytváraní arómy holandských syrov. 4-heptanón nebol v zmieňovaných prácach identifikovaný, avšak jeho prítomnosť naznačuje, že mikroorganizmy tvoria širokú paletu keto zlúčenín, ktoré sa určitým spôsobom podieľajú na výslednej aróme syrov.

Karboxylové kyseliny s krátkym reťazcom ( $C_2 - C_8$ ) sa takisto podieľajú na celkovej aróme eidamských syrov [51]. Kyselina maslová, hexanová a oktánová boli identifikované ako súčasť celkovej arómy syrov v prácach Van Leuven a kol. [52], Jo a kol. [80] a Shiota a kol. [84]. Rovnako bola kyselina hexanová a oktánová identifikovaná aj v pistáciovom oleji, no navyše boli v ňom identifikované aj kyseliny pentánová či octová [85, 86]. Kyselina propionová nebola zmienená ani v jednej zo spomínaných prác, avšak sa rovnako podieľa na aróme syrov, keďže spadá medzi kyseliny s krátkym reťazcom.

Tabuľka 12 Prehľad identifikovaných prchavých látok vo vzorkách

názov zlúčeniny	skupina	T <sub>R</sub> [min]	D	A	referencia
etanol	alkohol	4,66	i	i	
2,3-butandión	ketón	5,81	i	i	80
etyl-butanoát	ester	7,39	i	i	52, 80
hexanál	aldehyd	9,00	i	i	52, 80, 85
4-heptanón	ketón	10,64	i	i	
1-butanol	alkohol	11,48	i	i	
2-heptanón	ketón	13,08	i	i	52, 80
D-limonén	terpén	13,58	i	i	84, 85, 86
3-metylbutanol	alkohol	14,16	i	i	
butyl-butanoát	ester	14,59	i	i	
2-pentylfurán	furán	15,22	i		86
etyl-hexanoát	ester	15,30	i	i	52
pentanol	alkohol	16,09	i	i	
acetoin	ketón	17,81	i	i	52, 80, 84
etyl-laktát	ester	20,41	i	i	
hexanol	alkohol	20,75	i	i	85, 86
nonanál	aldehyd	22,59	i	i	52, 85, 86
etyl-oktanoát	ester	24,31	i	i	
okt-1-én-3-ol	alkohol	25,10	i		85,86
heptyl-formiát	ester	25,31	i		
kyselina octová	kyselina	25,72	i	i	85
2-etyl-1-hexanol	alkohol	26,92	i	i	
cykloheptanol	alkohol	28,12	i		
2,3-butandiol	alkohol	29,94	i	i	52
kyselina propionová	kyselina	30,43	i	i	
2,3-butandiol	alkohol	32,52	i	i	52
kyselina maslová	kyselina	36,68	i	i	52, 80, 84
3-etyl-2,4-pentadién-1-ol	alkohol	40,51	i		
kyselina pentanová	kyselina	44,72	i	i	85, 86
metoxyfenyloxim	aldoxim	45,73	i	i	
geraniol	alkohol	49,46	i	i	
kyselina hexanová	kyselina	50,06	i	i	86
benzylalkohol	alkohol	50,93	i	i	52
dimetylsulfón	sulfón	52,13	i	i	
fenyletylalkohol	alkohol	52,37	i	i	52, 85, 86
4-metoxybenzaldehyd	aldehyd	57,12	i	i	
kyselina oktanová	kyselina	58,79	i	i	52, 80, 84

Značenie vzoriek vid' Tabuľka 9, T<sub>R</sub> = priemerný retenčný čas, i = látka bola identifikovaná

Pre vznik esterov je potrebné mať prítomné obe hlavné zložky esterov: karboxylovú kyselinu a alkohol. V našom prípade boli okrem etyl-laktátu identifikované už všetky etyl-estery v predchádzajúcich štúdiách Van Leuven a kol. [52] a Jo a kol. [80]. Vďaka prítomnosti ako aj butanolu, tak aj kyseliny maslovej sa dá očakávať aj prítomnosť butyl-butanoátu, obdobne je na tom aj etyl-laktát, aj keď kyselina mliečna nebola samotná identifikovaná, jej prítomnosť je istá kvôli prítomnosti mikroorganizmov, ktoré fermentujú cukry práve aj na túto kyselinu [9]. Prítomnosť heptyl-formiátu je pravdepodobne spôsobená prídavkom oleja, keďže táto zlúčenina bola identifikovaná len v syrovom analógu. Avšak táto zlúčenina nebola identifikovaná v žiadnej zo zmieňovaných štúdií.

Čo sa týka ostatných zlúčenín, z nich boli v spomínaných prácach identifikované len 2-pentylfurán [86], ktorý je prítomný v pistáciovom oleji a D-limonén [84 – 86], ktorý sa nachádza ako v syroch, tak aj v oleji. Prítomnosť dimetylsolfónu a metoxyfenyloximu nebola potvrdená ani v jednej zo zmieňovaných prác.

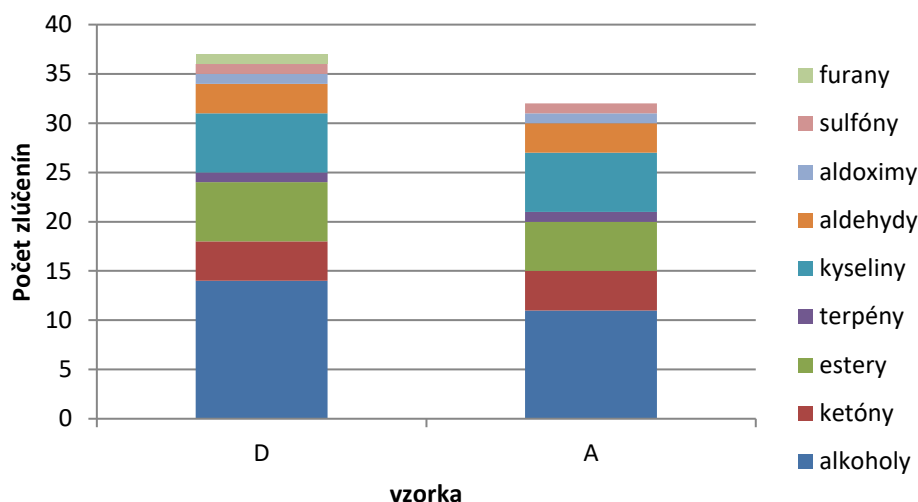
#### 4.2.2 Porovnanie počtu identifikovaných látok vo vzorkách

Počet identifikovaných AAL bol vo vzorkách podľa očakávania odlišný (Obrázok 13, prehľadnejšie v Tabuľka 13). V syrovom analógu bolo identifikovaných viac zlúčenín.

Oproti kontrolnej vzorke (A) obsahovala vzorka s olejom (D) navyše celkom 5 zlúčenín, konkrétne 3 alkoholy (okt-1-én-3-ol, cykloheptanol a 3-etyl-2,4-pentadién-1-ol), jeden ester (heptyl-formiát) a jeden furán (2-pentylfurán). Dá sa predpokladať, že sa do finálneho výrobku dostali z použitého pistáciového oleja, ako bude diskutované ďalej.

*Tabuľka 13 Zastúpenie počtu jednotlivých AAL vo vzorkách*

typ zlúčeniny	D	A
alkoholy	14	11
ketóny	4	4
estery	6	5
terpény	1	1
karboxylové kyseliny	6	6
aldehydy	3	3
aldoximy	1	1
sulfóny	1	1
furany	1	0
celkom	37	32



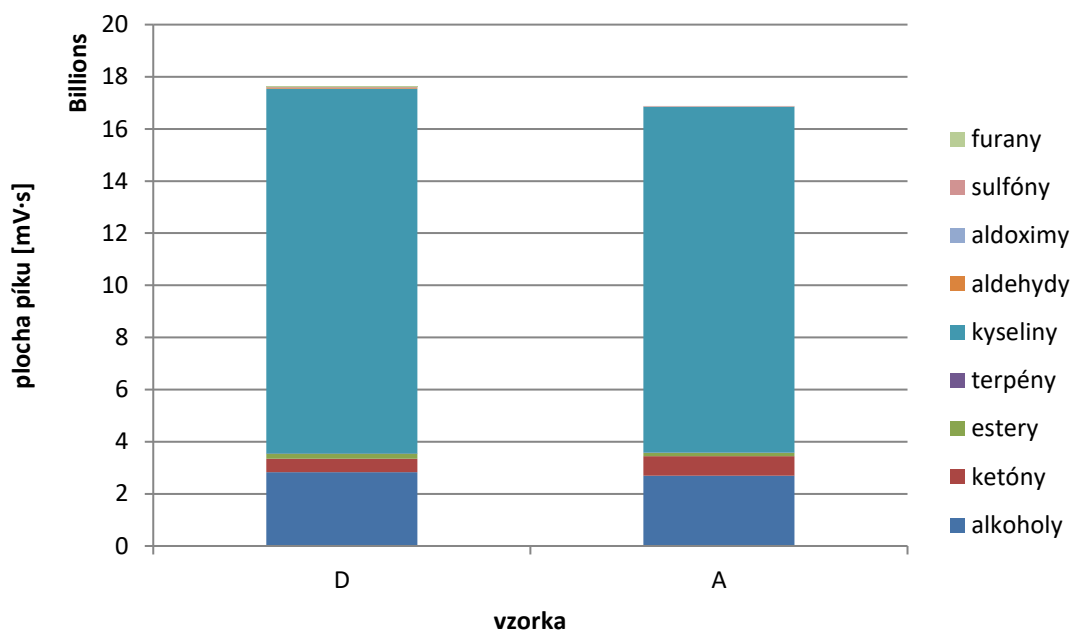
Obrázok 13 Zastúpenie počtu jednotlivých AAL vo vzorkách

#### 4.2.3 Porovnanie obsahu identifikovaných látok vo vzorkách

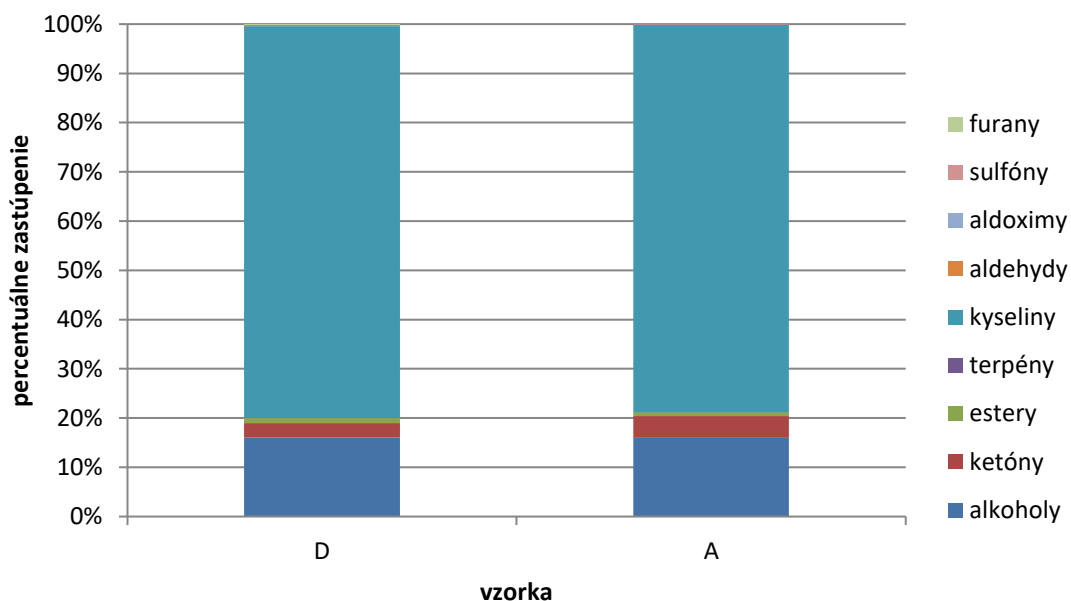
Obsah identifikovaných zlúčenín je vyjadrený semikvantitatívne za použitia ploch príslušných pík na chromatograme. V grafoch na Obrázok 14 Obrázok 15 je uvedené porovnanie obsahu identifikovaných zlúčenín vo vzorkách, rozdelené podľa chemických skupín. Výsledky sú vyjadrené jednak porovnaním plôch pík (Obrázok 14) a ako „relatívny obsah“, tzn. % z celkovej plochy všetkých pík na chromatograme (Obrázok 15).

Pre lepšiu prehľadnosť sú potom jednotlivé chemické skupiny zlúčenín prezentované v samostatných grafoch na Obrázok 16 až Obrázok 22.

Rovnako ako v prípade počtu AAL, je aj ich celkový obsah vyšší vo vzorke s použitím rastlinného oleja. Z grafov (Obrázok 14 a Obrázok 15) je viditeľné, že vo vzorke D je vyšší obsah alkoholov, podobne ako v prípade Zoidou a kol. [31], a kyselín, no nižší obsah ketónov. Najväčšie zastúpenie v oboch vzorkách majú mastné kyseliny s krátkym reťazcom (C2-C8), ktoré sú dôležité pri vytváraní správnej syrovej arómy [52]. Druhou najviac zastúpenou skupinou látok sú alkoholy, ktoré sa podieľajú na zjemnení celkovej arómy, keďže sú nositeľmi jemných alkoholovo – ovocných aróm [52]. Treťou významnou skupinou látok, ktoré sú zodpovedné a dotvárajú syrovú arómu, sú ketóny, tie najčastejšie vznikajú z metabolických dráh citrátu, alebo pri redukcii mastných kyselín [52, 81-83].



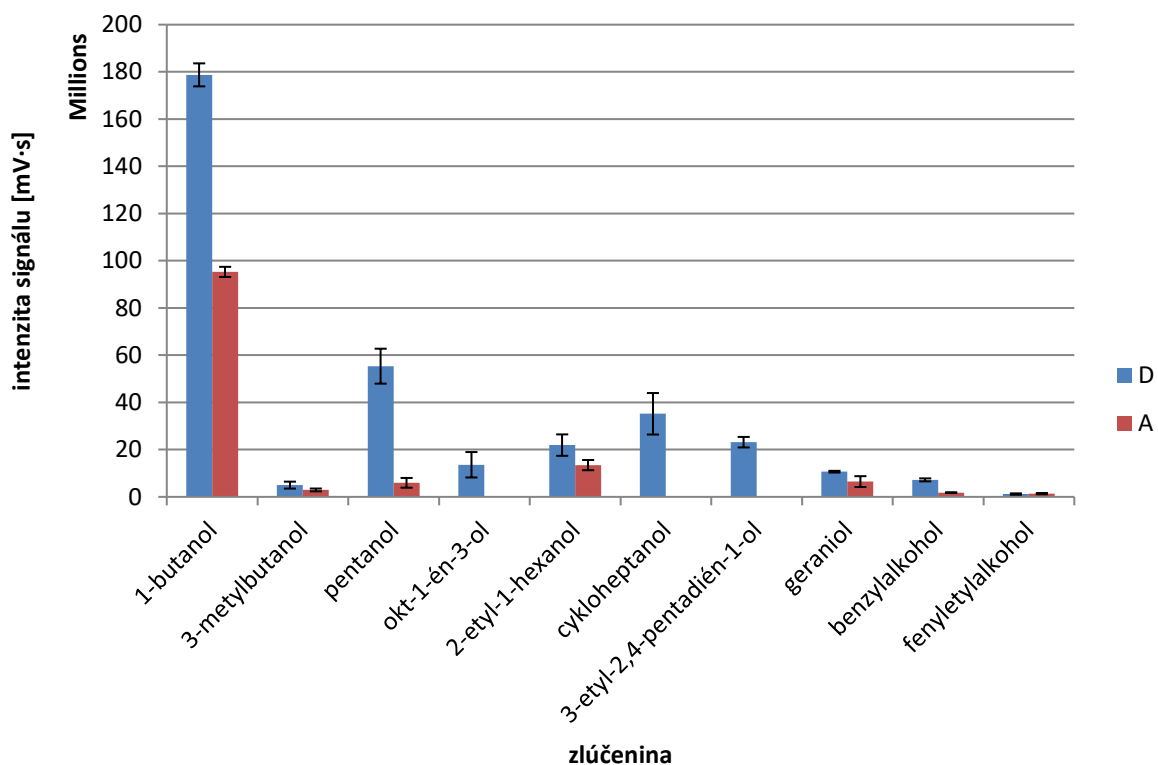
Obrázok 14 Zastúpenie jednotlivých AAL vo vzorkách podľa plochy píkov



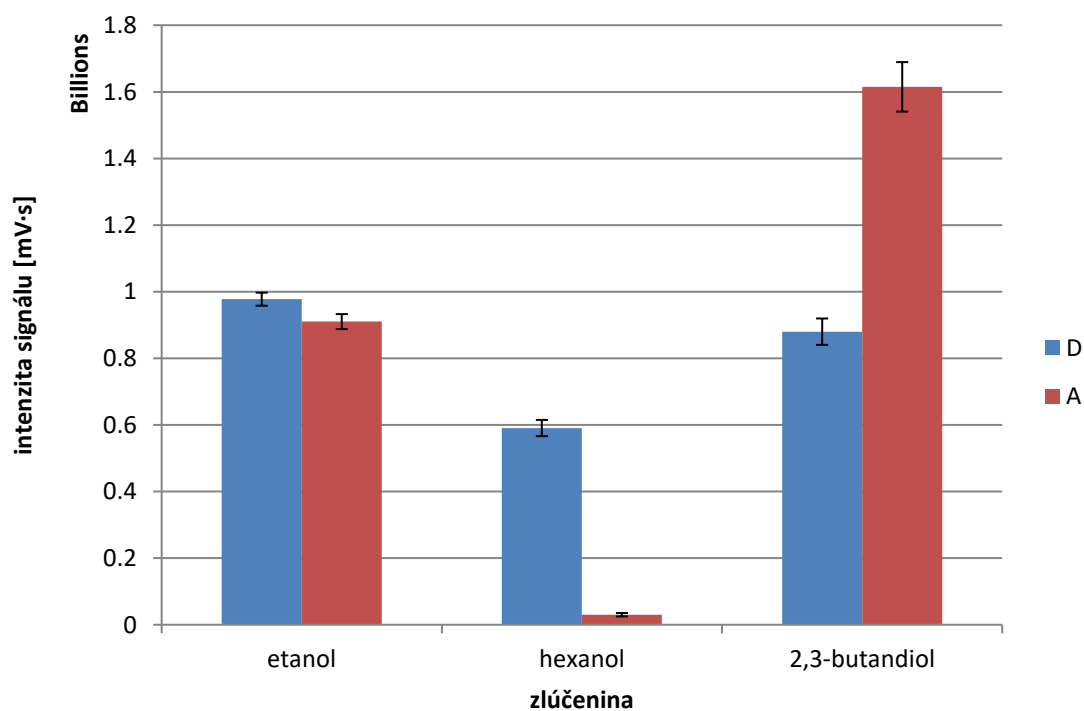
Obrázok 15 Percentuálne zastúpenie jednotlivých AAL vo vzorkách

Vďaka použitiu pistáciového oleja sa vo vzorke D výrazne zmenil obsah niektorých alkoholov. Za povšimnutie stojí nárast obsahu alkoholov (Obrázok 16) ako sú 1-butanol, pentanol, cykloheptanol, benzylalkohol, okt-1-én-3-ol či hexanol. Tieto alkoholy pravdepodobne pochádzajú z použitého oleja, ako môžeme vidieť v Tabuľka 8. Alifatický alkohol hexanol má taktiež preukázanú aromatickú aktivitu [85], vďaka čomu môže predávať syrovému analógu jemnú ovocno-trávovú arómu. Viditeľný je takisto vyšší obsah

2,3-butandiolu (Obrázok 17) vo vzorke A, ten pravdepodobne vznikol postupnou redukciou diacetylú [52].

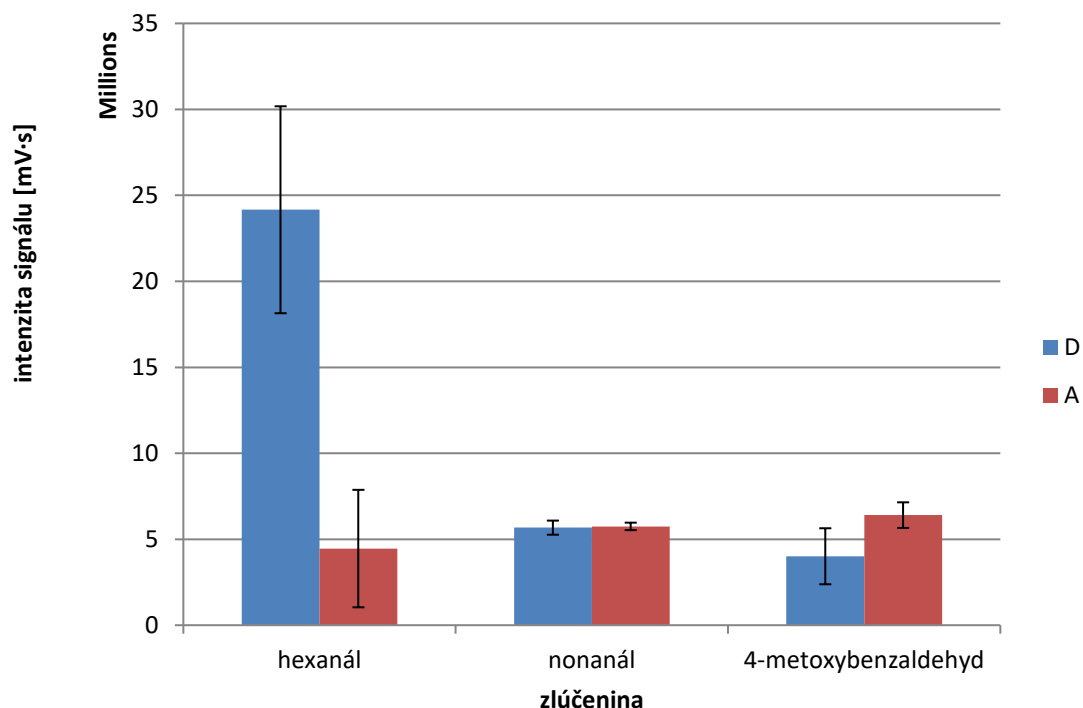


Obrázok 16 Zastúpenie jednotlivých alkoholov vo vzorkách I



Obrázok 17 Zastúpenie jednotlivých alkoholov vo vzorkách II

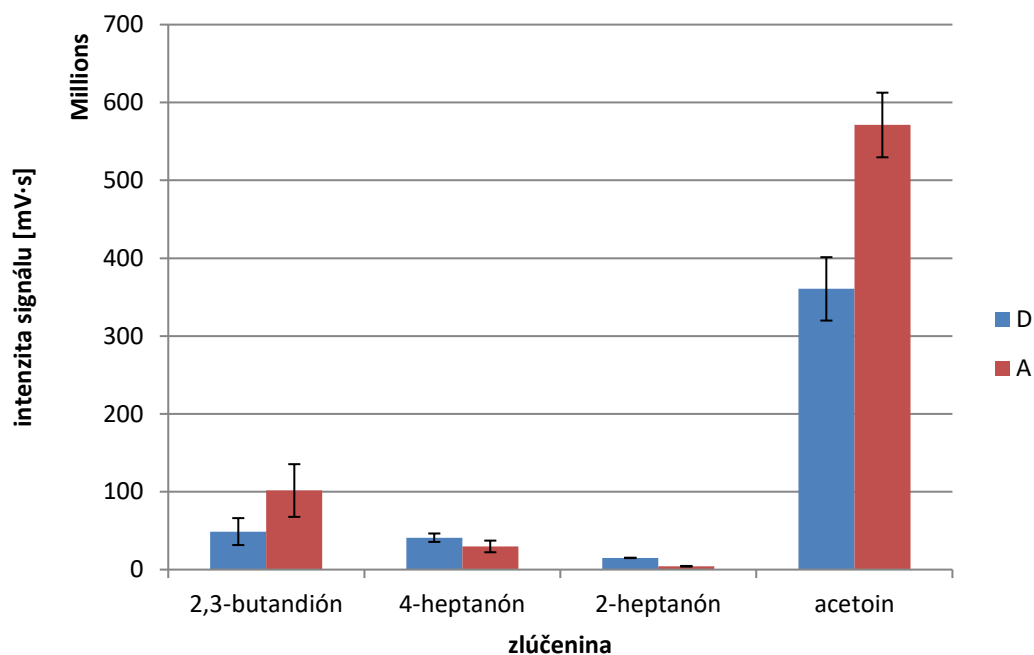
Čo sa týka aldehydov, výrazné, takmer 5-násobné zvýšenie je zaznamenané v prípade hexanálu (Obrázok 18). Tento aldehyd sa v hojnom zastúpení vyskytuje v pistáciiovom oleji, odkiaľ sa dostal aj do syrového zrna pri výrobe. Podobne ako jeho redukovaná forma – hexanol – aj hexanál poskytuje ovocnú vôňu. Preukázanú aromatickú aktivitu má spolu s hexanálom aj nonanál [85], no v tomto prípade je obsah nonanálu takmer rovnaký v oboch vzorkách.



Obrázok 18 Zastúpenie jednotlivých aldehydov vo vzorkách

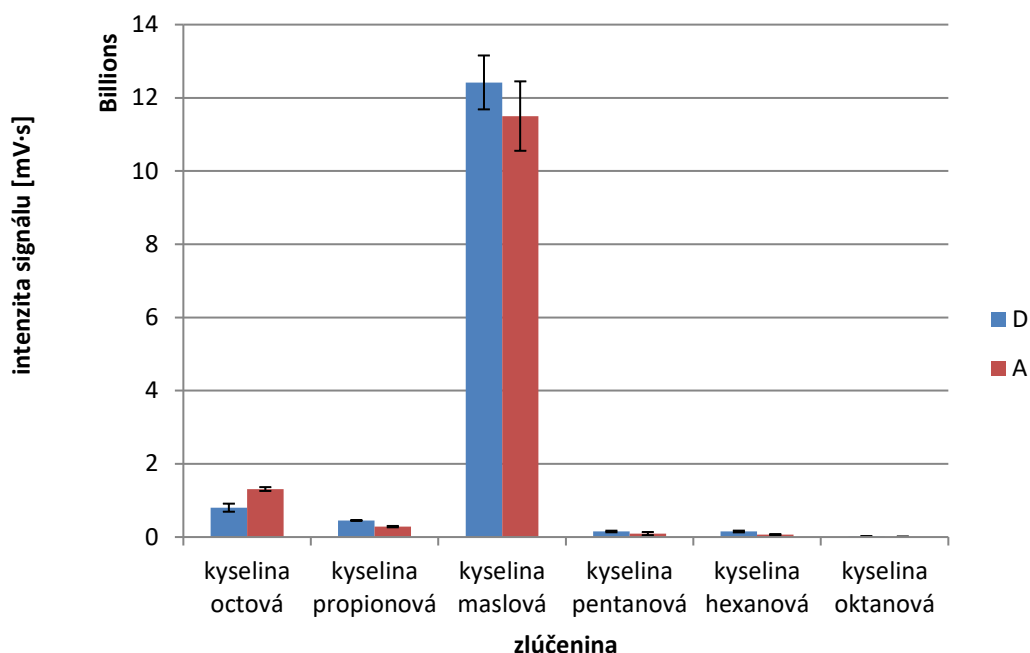
Celkový obsah ketónov je vyšší pri vzorke A (Obrázok 19), jedná sa hlavne o 2,3-butandión (diacetyl) a jeho redukovanú formu acetoin (3-hydroxy-2-butanón). Tieto AAL pochádzajú z činnosti mikroorganizmov, ktoré fermentujú cukry prítomné v mlieku. Nižšie koncentrácie týchto látok vo vzorke D, teda vzorke s prídavkom oleja, môžu indikovať, že prídavok oleja potlačuje činnosť mikroorganizmov v tvorbe ketonov. Prítomnosť týchto látok dodáva syru jeho požadovanú arómu, keďže diacetyl a acetoin patria ku kľúčovým látkam pri vytváraní arómy holandských syrov [52, 81-83]. Okrem 4-heptanónu boli ostatné identifikované ketóny rovnako prítomné vo vzorkách eidamských syrov v prácach Van Leuven a kol. [52], Jo a kol. [80] a Shiota a kol. [84].





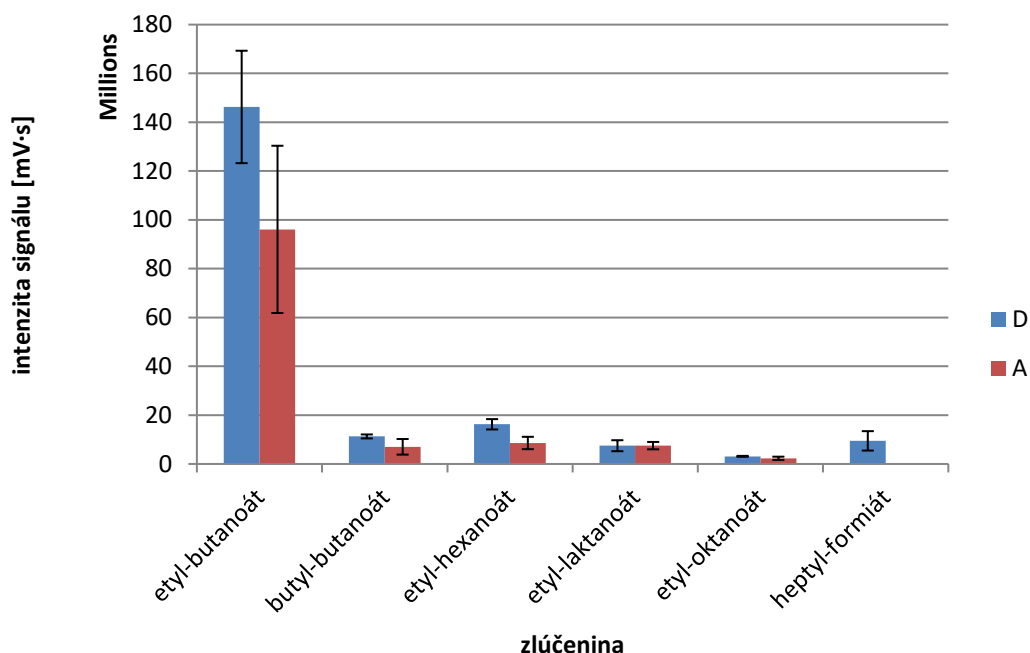
Obrázok 19 Zastúpenie jednotlivých ketónov vo vzorkách

Obsah kyselín je približne rovnaký v oboch vzorkách, no vzorka D má mierne zvýšený obsah všetkých kyselín okrem kyseliny octovej. Tá má trochu vyšší obsah pri vzorke A, no pri porovnaní Obrázok 20 a Obrázok 17 vidíme recipročný vzťah medzi obsahom etanolu a kyseliny octovej. Je pravdepodobné, že obsah tejto kyseliny je vyšší vďaka rýchlejšej oxidácii etanolu. Dominantnou kyselinou je kyselina maslová, ktorá má vo vysokých koncentráciách nepríjemný až odpudzujúci pach, no v nízkych koncentráciách je jednou z hlavných zložiek arómy syrov [74].



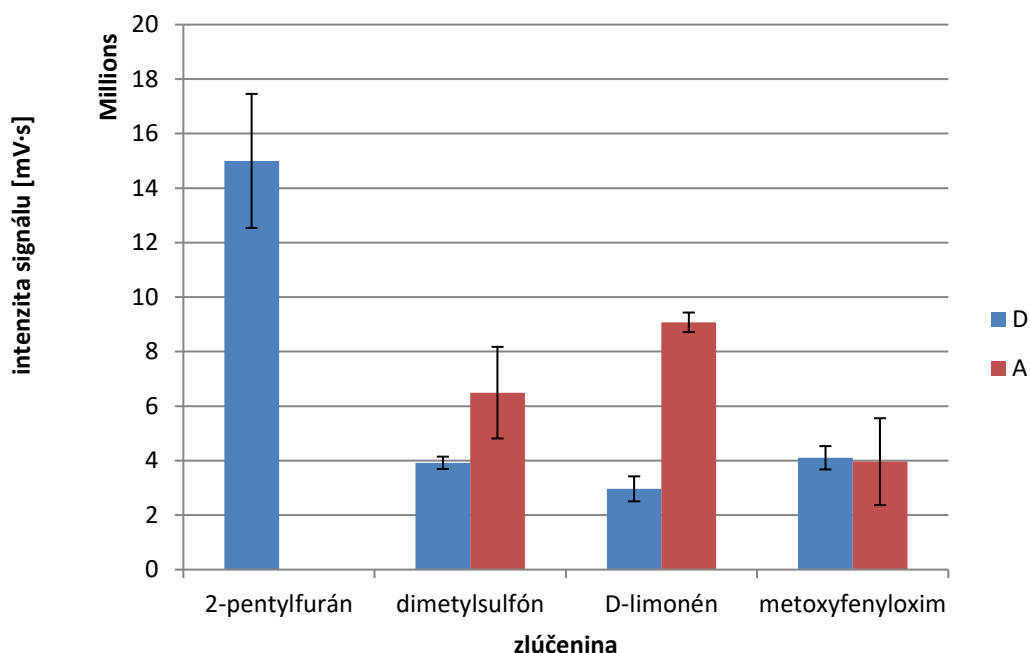
Obrázok 20 Zastúpenie jednotlivých kyselín vo vzorkách

Keďže z predchádzajúcich grafov (Obrázok 16, Obrázok 17 a Obrázok 20) je viditeľné, že obsah kyselín aj obsah alkoholov (etanol a butanol) je vyšší pri vzorke D, je pravdepodobné, že rovnako zvýšený bude aj obsah esterov. Je pozorovaný tretinový nárast koncentrácie etyl-butanoátu, a rovnako aj nárast koncentrácie ostatných esterov (Obrázok 21). Tie sú zodpovedné za sviežu ovocnú a kvetinovú vôňu [51, 80, 82]. V neposlednom rade stojí za povšimnutie prítomnosť heptyl-formiátu, ktorý bol identifikovaný len vo vzorke D. Tým pádom je pravdepodobné, že tento ester pochádza z pistáciového oleja, keďže jednotlivé zložky tohto esteru (kyselina mravčia a heptanol) neboli identifikované. Identifikovaný bol však cykloheptanol. Tento alicyklický alkohol mohol poslúžiť ako prekursor pre vytvorenie heptyl-formiátu.



Obrázok 21 Zastúpenie jednotlivých esterov vo vzorkách

Prítomnosť 2-pentylfuránu (Obrázok 22) je spôsobená prídavkom pistáciového oleja. Ten v ňom vzniká pri spracovávaní pistácií, buď pri extrakcii oleja z jadier pomocou skrutkového lisu, kedy teplota môže presiahnuť 50 °C, alebo, čo je pravdepodobnejšie, pri pražení pistácií, keďže použitý olej mal zelenú farbu, čo je dôkazom toho, že použité pistácie na jeho výrobu boli pražené (viď kapitola 2.5.2.2). Prítomnosť dimetylsulfónu, ktorý je oxidovanou formou dimetylsulfidu, indikuje prebiehajúcu degradáciu peptidov na aminokyseliny, ktoré sú prekursorami pre sírne zlúčeniny [51, 52, 80], takže zvýšený obsah dimetylsulfónu vo vzorke A napovedá o možnej rýchlejšej degradácii týchto látok. Terpén D-limonén sa do vzoriek dostal ako súčasť mlieka, v ktorom sa prirodzene vyskytuje, pretože pochádza zo stravy dojníc. Avšak tento terpén sa nachádza aj v pistáciovom oleji, takže bolo očakávané, že ho bude viac práve vo vzorke s olejom. Opak je však pravdou, a to môže znamenať, že pri výrobe boli použité rozdielne šarže mlieka.



Obrázok 22 Zastúpenie ostatných zlúčenín vo vzorkách

#### 4.3 Voľné a viazané mastné kyseliny v modelových vzorkách syru a analógu

Pre stanovenie voľných a viazaných MK bola aplikovaná izolácia lipitov zo vzoriek zmesou rozpúšťadiel (dietyléter, petroléter), následná esterifikácia MK za použitia bortrifluoridu ako katalyzátoru a konečná analýza GC-FID (viď kap. 3.3).

Identifikácia MK vo vzorkách bola realizovaná na základe porovnávania retenčných časov MEMK s príslušnými štandardmi. Kvantifikácia MK bola realizovaná porovnaním plôch píkov so štandardmi o známej koncentrácii. Ukážky chromatogramov sú uvedené v prílohe 4 až 7.

V mliečnom tuku bolo doposiaľ identifikovaných viac ako 400 rôznych MK, no spomedzi týchto kyselín je pozornosť venovaná približne 20 – 30 kyselinám, ktoré majú najdominantnejšie zastúpenie v mlieku [1, 16, 17]. Čo sa týka pistácie oleja, ten obsahuje najviac mononenasýtených MK, nasledovaných polynenasýtenými [37]. Preto sa očakáva, že použitie tohto oleja pri výrobe analógu bude mať za následok zvýšenie obsahu nenasýtených MK vo výrobku.

Rovnako ako v prípade prchavých látok, vo vyrobených syrových analógoch je možné očakávať už skôr zmienené voľné aj viazané MK typické pre eidamské syry (kap. 2.4).

Celkovo bolo vo vzorkách identifikovaných 28 MK, voľných aj viazaných. Zastúpenie jednotlivých MK je v Tabuľka 14, ich obsah je vyjadrený v  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  vyextrahovaného tuku.

#### 4.3.1 Prehľad identifikovaných mastných kyselín vo vzorkách

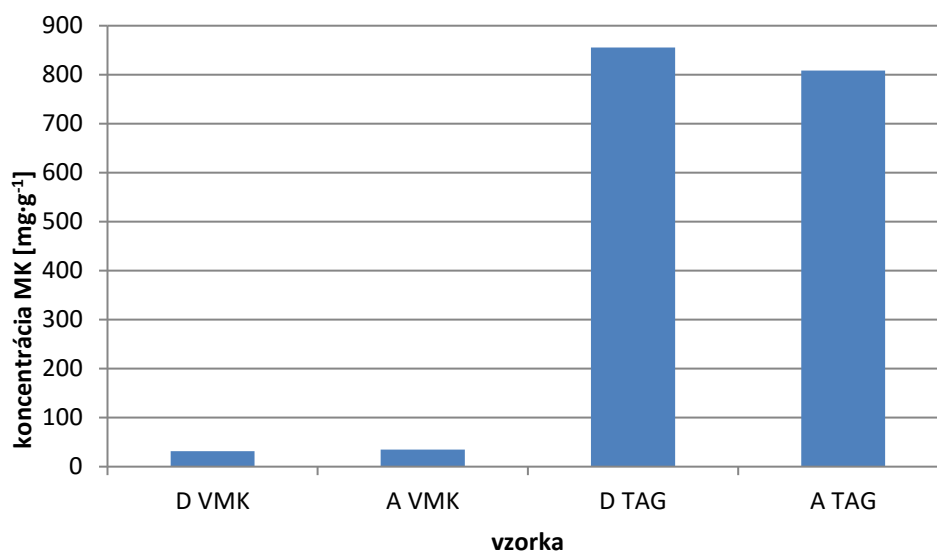
Jedným z cieľov tejto práce je posúdenie vplyvu prídavku orechového oleja do syrového analógu. Predpokladá sa, že prídavok pistácieového oleja spôsobí zvýšenie obsahu určitých MK, hlavne MUFA a PUFA, ktoré sú dominantné pre tento olej. Preto budú nasledujúce kapitoly venované hlavne porovnaniu obsahu vybraných MK.

Tabuľka 14 Identifikované mastné kyseliny vo vzorkách (v  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  tuku)

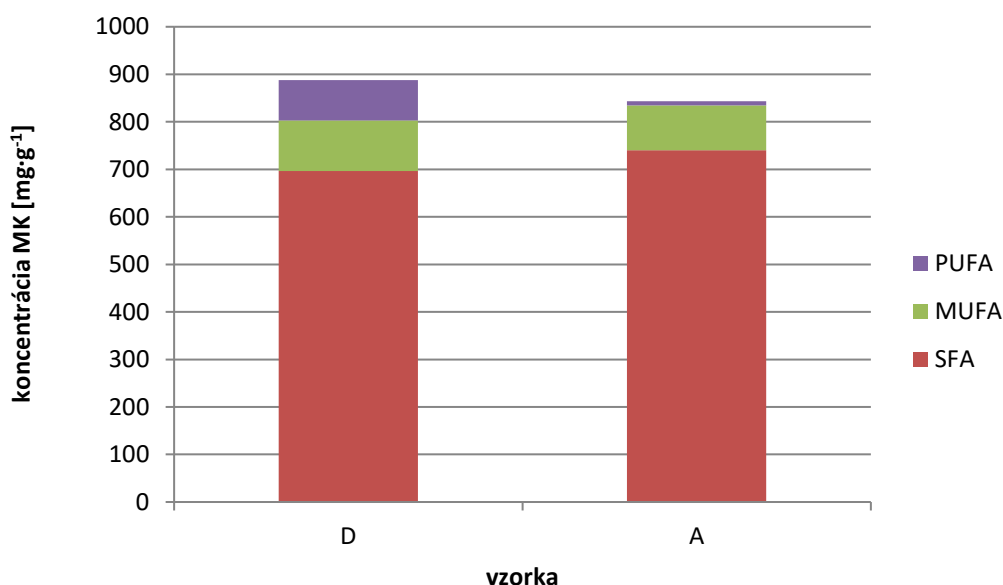
Názov kyseliny	TAG		VMK	
	D	A	D	A
Kyselina maslová	18,46 ± 2,87	24,49 ± 5,57	2,47 ± 0,38	2,16 ± 0,74
Kyselina kapronová	29,77 ± 8,29	35,46 ± 6,27	1,52 ± 0,30	1,73 ± 0,34
Kyselina kaprylová	18,77 ± 5,86	21,46 ± 4,04	0,88 ± 0,25	1,03 ± 0,15
Kyselina kaprinová	49,18 ± 14,96	55,51 ± 9,92	2,07 ± 0,57	2,49 ± 0,33
Kyselina undekanová	1,19 ± 0,25	1,59 ± 0,57	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01
Kyselina laurová	56,79 ± 15,83	63,63 ± 10,16	2,35 ± 0,57	2,74 ± 0,38
Kyselina tridekanová	1,72 ± 0,34	2,20 ± 0,68	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,02
Kyselina myristová	149,56 ± 41,30	165,77 ± 25,11	5,53 ± 1,39	6,47 ± 0,79
Kyselina myristolejová	10,85 ± 3,50	12,14 ± 1,82	0,42 ± 0,16	0,51 ± 0,05
Kyselina pentadekanová	15,60 ± 4,36	17,02 ± 2,53	0,58 ± 0,16	0,71 ± 0,06
Kyselina <i>cis</i> -10-pentadecenová	2,35 ± 0,53	1,44 ± 0,27	0,04 ± 0,00	0,08 ± 0,02
Kyselina palmitová	286,56 ± 73,24	284,39 ± 42,73	10,12 ± 3,23	11,64 ± 0,67
Kyselina palmitolejová	17,54 ± 4,87	18,25 ± 2,79	0,62 ± 0,25	0,95 ± 0,10
Kyselina heptadekanová	3,29 ± 0,61	2,98 ± 0,59	0,06 ± 0,01	0,11 ± 0,02
Kyselina <i>cis</i> -10-heptadecenová	1,95 ± 0,38	1,89 ± 0,39	0,03 ± 0,00	0,07 ± 0,01
Kyselina stearová	38,45 ± 10,75	35,00 ± 5,33	1,10 ± 0,51	1,31 ± 0,12
Kyselina olejová	69,80 ± 20,34	55,92 ± 8,77	2,00 ± 1,00	2,14 ± 0,26
Kyselina linolová	59,85 ± 17,81	6,01 ± 1,00	1,54 ± 0,71	0,32 ± 0,05
Kyselina $\gamma$ -linolenová	0,29 ± 0,06	0,49 ± 0,06	0,02 ± 0,02	0,01 ± 0,00
Kyselina $\alpha$ -linolenová	21,85 ± 4,81	1,60 ± 0,29	0,27 ± 0,05	0,08 ± 0,03
Kyselina arachová	0,22 ± 0,06	0,19 ± 0,02	N/A	0,01 ± 0,00
Kyselina <i>cis</i> -11-eikosenová	0,22 ± 0,04	0,22 ± 0,08	0,07 ± 0,06	0,03 ± 0,00
Kyselina <i>cis</i> -11,14-eikosadienová	0,09 ± 0,03	N/A	N/A	N/A
Kyselina heneikosanová	0,11 ± 0,03	0,12 ± 0,03	N/A	0,01 ± 0,00
Kyselina <i>cis</i> -8,11,14-eikosatrienová	0,39 ± 0,10	0,42 ± 0,12	N/A	0,02 ± 0,00
Kyselina arachidonová	N/A	0,05 ± 0,01	N/A	N/A
Kyselina behenová	0,22 ± 0,06	0,18 ± 0,07	0,03 ± 0,01	0,08 ± 0,01
Kyselina eruková	0,47 ± 0,01	0,30 ± 0,05	0,07 ± 0,00	0,07 ± 0,02

TAG – viazané MK, VMK – voľné MK, N/A – (Not Available) zlúčenina nebola identifikovaná

Ako je viditeľné z grafov na Obrázok 23 a Obrázok 24, prídavok oleja spôsobil zvýšenie celkového obsahu MK, tak aj zvýšenie obsahu mono- a polynenasýtených MK. Obdobné výsledky, teda zvýšenie obsahu MUFA a- PUFA, dosiahli aj Marapana a kol. [30] pri výrobe syrového analógu s obsahom kukuričného oleja či Zoidou a kol. [31] s použitím oleja olivového.



Obrázok 23 Obsah voľných a viazaných MK vo vzorkách



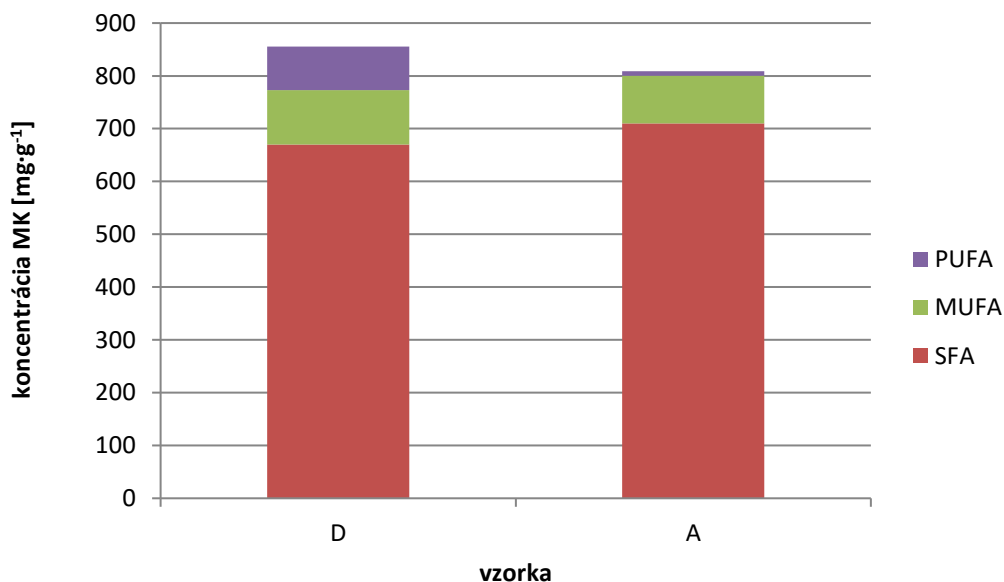
Obrázok 24 Porovnanie obsahu jednotlivých druhov MK vo vzorkách

#### 4.3.2 Porovnanie počtu a obsahu viazaných mastných kyselín vo vzorkách

Približne 98 % MK nachádzajúcich sa v mlieku je viazaných na glycerol. Takto viazané MK sa dajú stanoviť transesterifikáciou po zmydlení VMK vo vzorke, podrobný postup úpravy vzorky je v kapitole 3.3.2.1.

Počet identifikovaných viazaných MK je v oboch vzorkách rovnaký – 27 rôznych MK, pričom vo vzorke A nebola identifikovaná kyselina *cis*-11,14-eikosadienová a vo vzorke D nebola prítomná kyselina arachidonová.

Z Obrázok 25 je viditeľné, že pridaný olej spôsobil zvýšenie obsahu MUFA aj PUFA, ktoré sú estericky viazané na glycerol. Avšak, v kontrolnej vzorke (A), ktorá bola vyrobená bez prídavku oleja, pozorujeme mierne zvýšenie obsahu SFA.



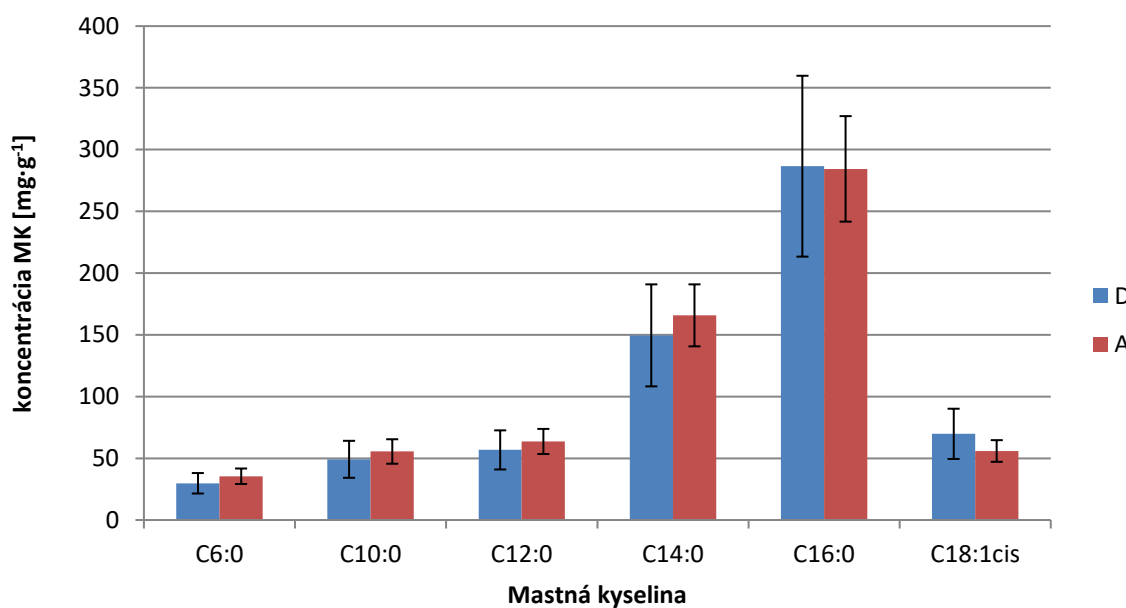
Obrázok 25 Porovnanie obsahu jednotlivých druhov viazaných MK vo vzorkách

Čo sa týka obsahu jednotlivých viazaných MK, sú prehľadne prezentované v grafoch na obrázkoch 26 – 28 (rozdelené cca podľa koncentrácie), pozorujeme zvýšenie obsahu hlavne nenasýtených MK. Výrazný nárast je pri kyseline linolovej (Obrázok 27), ktorej koncentrácia v analógu je približne 10krát vyššia. Rovnako pozorujeme nárast obsahu kyseliny olejovej (Obrázok 26), avšak v menšej miere, keďže obsah kyseliny olejovej a linolovej má v pistáciovom oleji inverzný vzťah [32]. Významný rozdiel obsahu má aj kyselina  $\alpha$ -linolénová. Jej obsah v analógu dosahuje až 13násobné zvýšenie. Táto kyselina sa radí medzi omega3 esenciálne MK a napomáha k správne fungovaniu organizmu. Rozdielny obsah je aj pri kyseline *cis*-10-pentadecenovej, v analógu je jej obsah približne 1,5krát vyšší. Všeobecne kyseliny s nepárnym počtom uhlíkov pochádzajú z mlieka, respektíve ich pôvodcom sú baktérie nachádzajúce sa v bachore dojnic [16], no kyseliny s párnym počtom uhlíkov sú prítomné v nízkych koncentráciách aj v pistáciovom oleji [37].

Obsah kyselín s krátkym reťazcom (C4 – C10) je v oboch vzorkách približne rovnaký, aj keď je ich obsah vyšší v kontrolnej vzorke (A), ich pomer je pre všetky kyseliny na skoro rovnakej hodnote. Tieto kyseliny sú špecifické práve pre mliečny tuk [16], preto sa ani neočakávala významná zmena ich obsahu v jednotlivých vzorkách. Obdobný je aj obsah kyselín so stredným (C12 – C18) a dlhým reťazcom (C20 a viac). Ich obsah sa v oboch vzorkách pohybuje okolo rovnakej hodnoty. Výnimkami sú neidentifikované MK, vo vzorke A je to kyselina *cis*-11,14-eikosadienová a vo vzorke D kyselina arachidonová. To môže byť

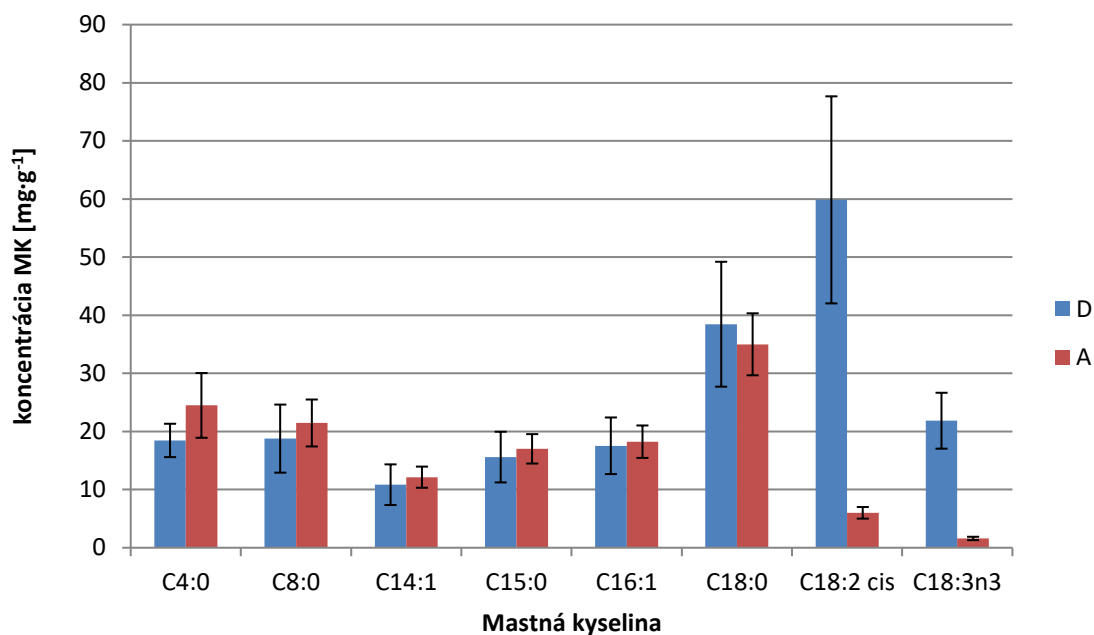
spôsobené aj ich nízkou koncentráciou a teda je možné, že sa dostali pod limit kvantifikácie použitej metódy.

Zaujímavý je aj rozdielny obsah kyseliny  $\gamma$ -linolénovej (Obrázok 28). Táto polynenasýtená kyselina by podľa očakávaní mala mať vyššiu koncentráciu práve v analógu, do ktorého sa mala dostať z oleja, podobne ako kyselina linolová či  $\alpha$ -linolénová. Opak je však pravdou, a kyselina  $\gamma$ -linolénová má vyššiu, viac ako 1,5 násobnú, koncentráciu v kontrolnej vzorke. Je tu teda možnosť, že kyselina  $\gamma$ -linolénová nepochádza z použitého oleja, keďže má rovnaký trend nárastu v obsahu ako ostatné MK, ktoré pochádzajú výhradne z mlieka (viď obsah C4 – C10).

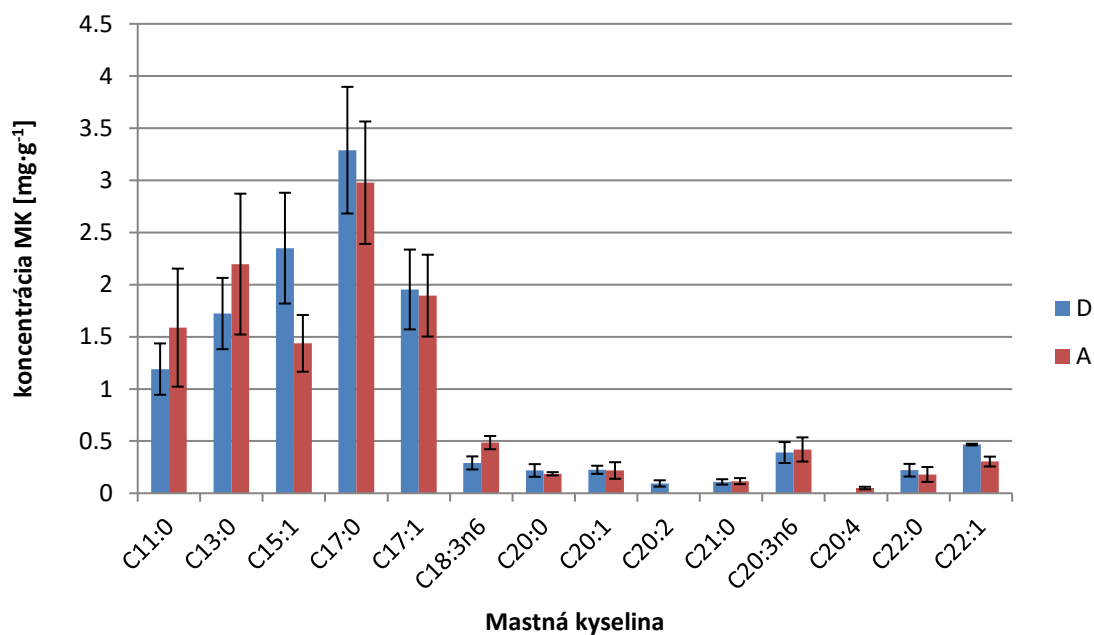


Obrázok 26 Porovnanie obsahu jednotlivých viazaných MK vo vzorkách I





Obrázok 27 Porovnanie obsahu jednotlivých viazaných MK vo vzorkách II



Obrázok 28 Porovnanie obsahu jednotlivých viazaných MK vo vzorkách III

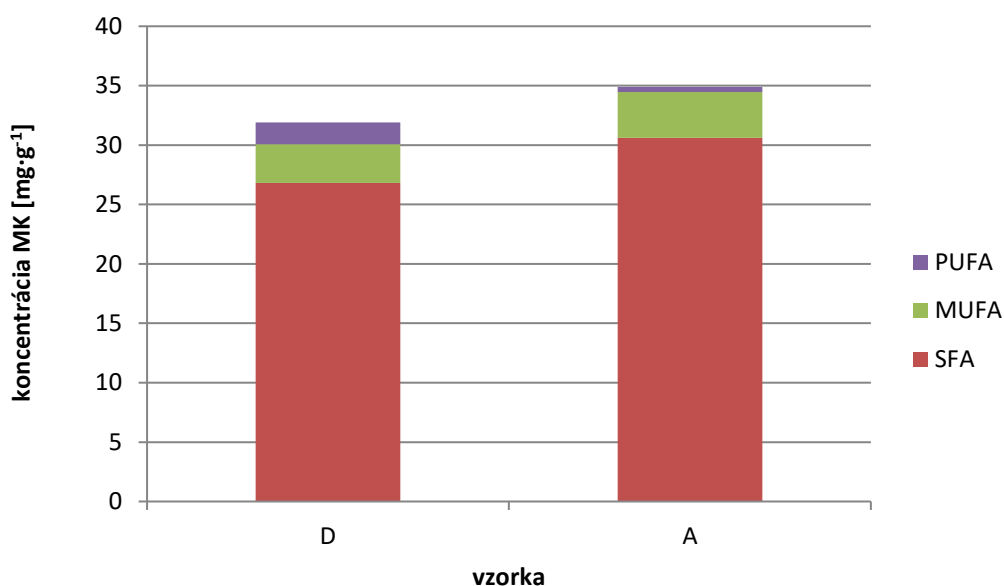
#### 4.3.3 Porovnanie počtu a obsahu voľných mastných kyselín vo vzorkách

Voľné mastné kyseliny majú v surovom mlieku zastúpenie približne 1 % z celkového obsahu lipidov. V syroch je toto percento vyššie vďaka pôsobeniu lipolytických enzýmov. Rovnako ich obsah stúpa kvôli pôsobeniu mikroorganizmov, kyseliny s krátkymi reťazcami sú produkované ako metabolity citrátu, laktátu či aminokyselín [14, 21, 51]. VMK sa nachádzajú aj v pistáciiovom oleji, zastúpenie majú ako krátke, tak aj dlhé MK, no vo veľmi malých koncentráciách [85]. Podrobný postup stanovenia VMK je v kapitole 3.3.2.2.

Vo vzorke D bolo identifikovaných 23 rôznych VMK, vzorka A obsahovala 26 MK. Vo vzorke D neboli nájdené kyseliny: arachová, heneikosanová, *cis*-8,11,14-eikosatrienová a v oboch vzorkách neboli prítomné kyseliny *cis*-11,14-eikosadienová a arachidonová.

Z Obrázok 29 je vidno, že celkový obsah VMK je v syrovom analógu (D) nižší, čo môže znamenať mierne pomalšiu prebiehajúcu lipolýzu, ako pri kontrolnej vzorke (A). Na druhú stranu je potrebné brať v úvahu, že VMK sú behom dozrievania syrov dôležitými prekursorami rôznych AAL, dochádza teda k ich postupnému odbúraniu: v niektorých prípadoch, zvlášť pri nenasýtených MK, môže dôjsť k tzv. oxidačnému žltnutiu za tvorby senzoricke nežiaducich zlúčenín (niektoré aldehydy apod.). Každopádne môžeme konštatovať, že prídavok orechového oleja ovplyvňuje priebeh dozrievania a stabilitu produktu.

Čo sa týka obsahu jednotlivých druhov MK, sú súhrne prezentované v grafe na obr. 29 a prehľadne jednotlivo v grafoch na obrázkoch 30 – 32 (rozdelené cca podľa koncentrácie), pozorujeme podobnú situáciu, ako pri viazaných MK, a teda, obsah PUFA je výrazne vyšší pri použití oleja, no obsah MUFA je približne rovnaký v oboch prípadoch. Obsah SFA je vyšší pri kontrolnej vzorke (A), v prípade VMK rovnako ako pri viazaných MK.

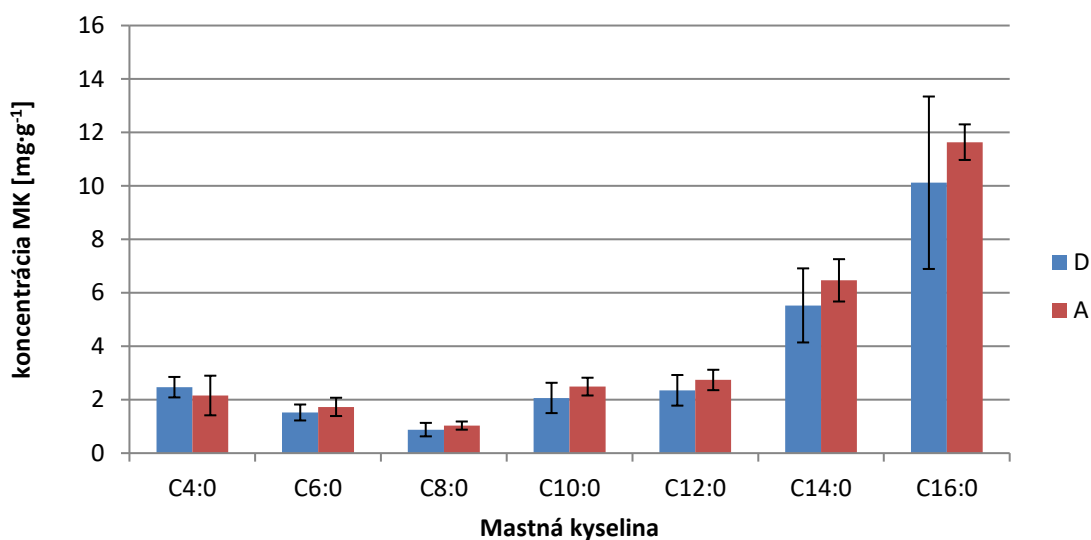


Obrázok 29 Porovnanie obsahu jednotlivých druhov voľných MK vo vzorkách

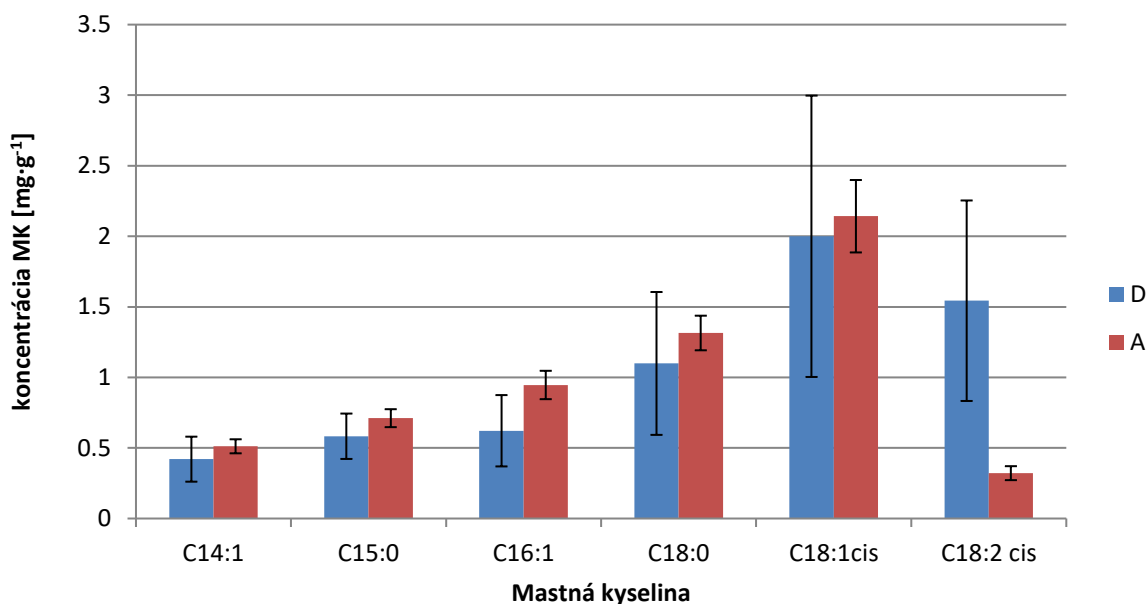
Pri porovnávaní obsahu VMK pozorujeme obdobný trend, ako bol pozorovaný pri obsahu viazaných MK. Najväčší nárast obsahu sledujeme pri kyseline linolovej a  $\alpha$ -linolénovej (Obrázok 31). Obsah kyseliny linolovej je takmer 5krát väčší a obsah kyseliny  $\alpha$ -linolénovej je viac ako trojnásobný. Významne vyšší je aj obsah kyseliny *cis*-11-eikosenovej (Obrázok 32). Obsah kyseliny olejovej, ktorá sa do analógu dostala ako z mlieka, tak aj z oleja, je približne rovnaký v oboch vzorkách. Ak zoberieme v úvahu, že syrový analóg obsahuje viac tuku ako kontrolná vzorka, tak zvýšený obsah VMK v kontrolnej vzorke znovu napovedá o možnej rýchlejšej lipolýze, ktorá prebiehala vo vzorke A.

Opačná situácia, ako v prípade viazaných MK, nastala pri porovnávaní obsahu kyseliny  $\gamma$ -linolénovej. Aj keď len v malej miere, ale jej koncentrácia je vyššia v analógu, tak ako sa to očakávalo v prípade TAG. Malý rozdiel oproti TAG nastal aj pri obsahu kyseliny maslovej (Obrázok 30). Tá vykazuje mierne zvýšenie koncentrácie pri vzorke D, no táto kyselina nemusela vzniknúť len lipolytickými reakciami, ktoré prebiehali počas dozrievania. Ako už bolo zmienené, VMK s krátkym reťazcom vznikajú aj pri metabolickom spracovaní sacharidov či peptidov.

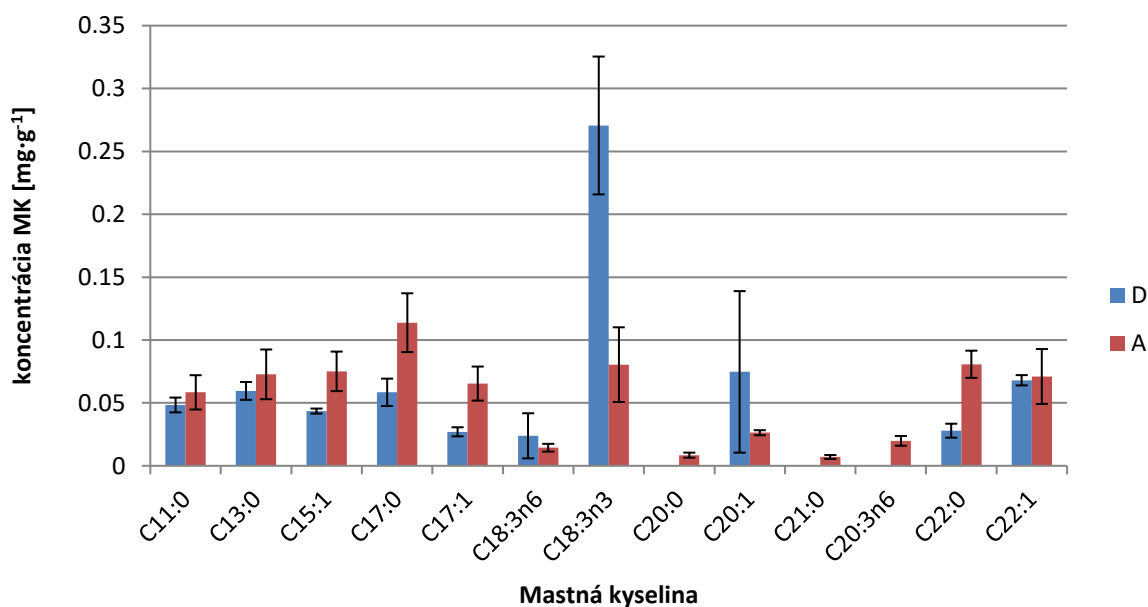
Kyseliny, ktoré neboli detegované vo vzorke D (arachová, heneikosanová, *cis*-8,11,14-eikosatrienová), mohli mať tak nízke koncentrácie, že sa dostali pod medze detekcie použitej metódy, keďže boli úspešne identifikované a kvantifikované v kontrolnej vzorke. Čo sa týka ostatných MK, ich koncentrácie majú približne rovnaké hodnoty v oboch vzorkách.



Obrázok 30 Porovnanie obsahu jednotlivých voľných MK vo vzorkách I



Obrázok 31 Porovnanie obsahu jednotlivých voľných MK vo vzorkách II



Obrázok 32 Porovnanie obsahu jednotlivých voľných MK vo vzorkách III

#### 4.4 Senzorická kvalita modelových vzoriek syru a analógu

Vyrobené modelové vzorky boli podrobené aj senzorickému hodnoteniu. Vzhľadom k tomu, že vzoriek bolo vyrobené len obmedzené množstvo, realizovalo sa jednoduché, orientačné senzorické hodnotenie, zamerané predovšetkým na chuťnosť a celkovú prijateľnosť vyrobených vzoriek. Taktiež sa hodnotilo či a akým spôsobom ovplyvňuje pridaný orechový olej senzorický charakter výrobku.

Samotné senzorické hodnotenie prebiehalo v kolektíve piatich hodnotiteľov „expertov“, ukážka pripravených vzoriek je na Obrázok 33.

Parametre ako vzhľad a farba na rezu, konzistencia (textúra), vôňa a chuť boli jednoducho porovnávané so štandardom (lepší/horši). V rámci hodnotenia chute a vône bola zvlášť hodnotená intenzita a príjemnosť chuti/vône po použití oleji pomocou jednoduchých stupníc. Hodnotitelia mali taktiež možnosť popísať dôvod svojho rozhodnutia pri hodnotení. Hlavný dôraz bol kladený na celkovú prijateľnosť vzoriek (viď formulár v prílohe 1).

Ako štandard optimálnej kvality bol použitý komerčne dostupný syr typu eidam 30 % t. v. s., 49 % sušiny. Požadované senzorické vlastnosti kvalitného eidamského syru sa dajú popísať nasledovne [88]:

- Farba a vzhľad – čistý hladký povrch bez poškodených miest, farba na rezu smotanová až syrovo žltá, tvar pravidelný, vyrovnaný s mierne vypuklými stenami
- Konzistencia – celistvá, vláčna a pružná, pri syroch s obsahom 30 % t. v. s. je konzistencia tuhšia a polotvrdá, na rezu menší počet ôk, prípadne bez ôk, mierne prevzdušnenie nie je chybou
- Chuť a vôňa – výrazná, syrovo mliečno jemná s mierne horko mandľovou alebo čisto mliečne nakyslou príchuťou



Obrázok 33 Modelové vzorky pripravené na senzorickú analýzu (A – kontrola, D – syrový analóg)

Na obrázkoch **Obrázok 34** a **Obrázok 35** je uvedené porovnanie jednotlivých vlastností modelových vzoriek (kontrola a analóg) so štandardom (komerčný eidam), na ose y je vždy uvedený príslušný počet odpovedí/hodnotiteľov. Bližší popis názoru hodnotiteľov je uvedený v Tabuľka 15.

Vzhľad a farba boli hodnotené ako jednoznačne horšie oproti štandardu. Obe vzorky mali popraskaný vzhľad a nepravidelné oká, vzorka D mala nerovnomernú farbu, vzorka A netypickú a tmavú farbu (**Obrázok 36**).

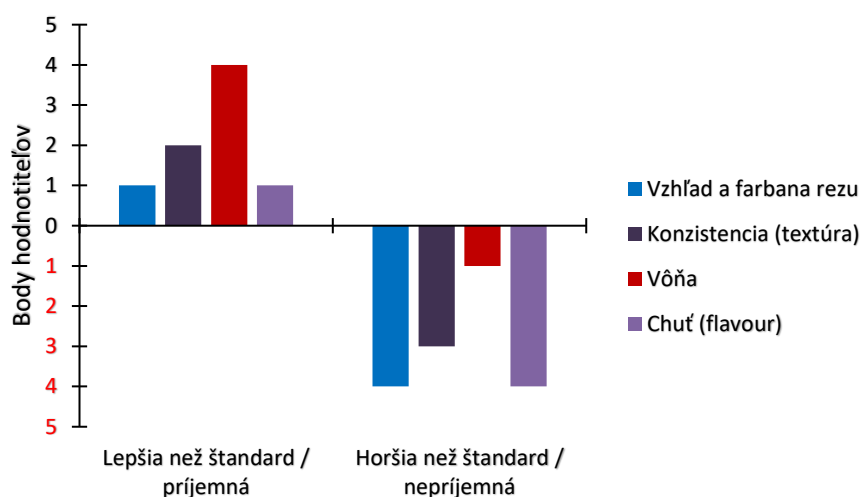
Konzistencia analógu bola horšia ako štandard, pre kontrolnú vzorku bolo hodnotenie nejednoznačné, dvaja hodnotitelia uviedli konzistenciu lepšiu ako štandard. Všeobecne bola konzistencia hodnotená ako tuhá, nerovnorodá, suchá a drobivá (**Obrázok 37**).

Vôňa kontrolnej vzorky bola hodnotená lepšie ako štandard, pri analógu traja hodnotitelia uviedli vôňu ako horšiu oproti štandardu. Hodnotitelia uviedli vlastnosti ako výraznejšia, príjemne kyslá, jemne kyslá alebo príjemná aróma. Pre analóg hodnotitelia uviedli, že vôňa je nepríjemná s olejovitou arómou prebívajúcou arómu syru (Obrázok 38).

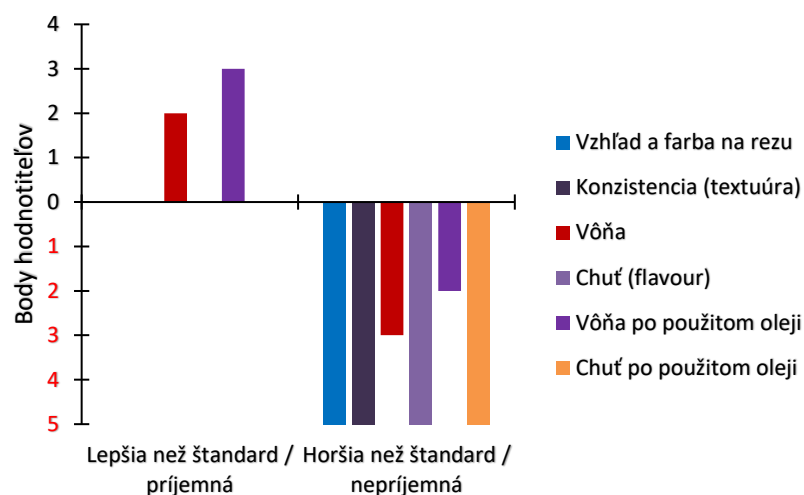
Chuť oboch vzoriek bola hodnotená ako horšia než štandard. V oboch prípadoch bol hlavným nedostatkom málo soli, pri analógu hodnotitelia uvádzali chute ako olejovitá či masťná (Obrázok 39).

V prípade syrového analógu bola vôňa po použití oleji hodnotená ako príjemná (Obrázok 35), so silnejšou intenzitou po použití oleji (Obrázok 40). Chuť po použití oleji bola hodnotená ako nepríjemná (Obrázok 35), so silnejšou až veľmi silnou intenzitou (Obrázok 41).

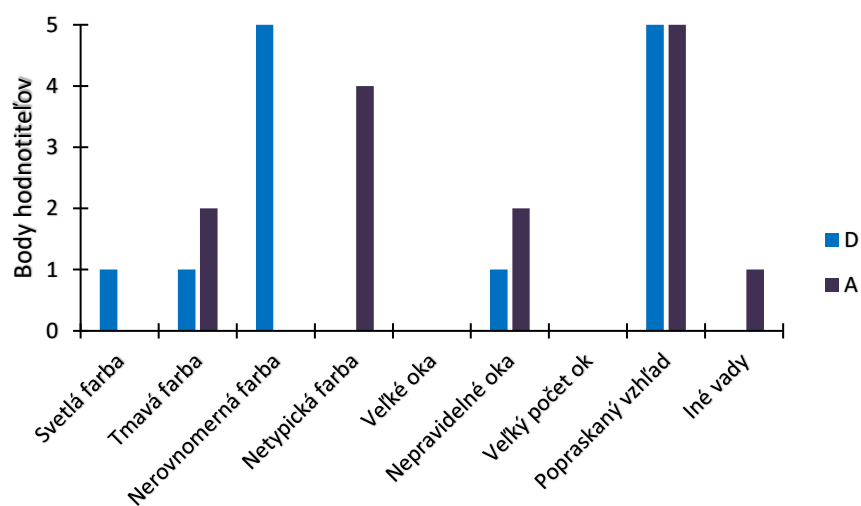
Celkovo bola kontrolná vzorka hodnotená ako dobrá až menej dobrá, pri analógu bola celková prijateľnosť menej dobrá až neprijateľná (Obrázok 42).



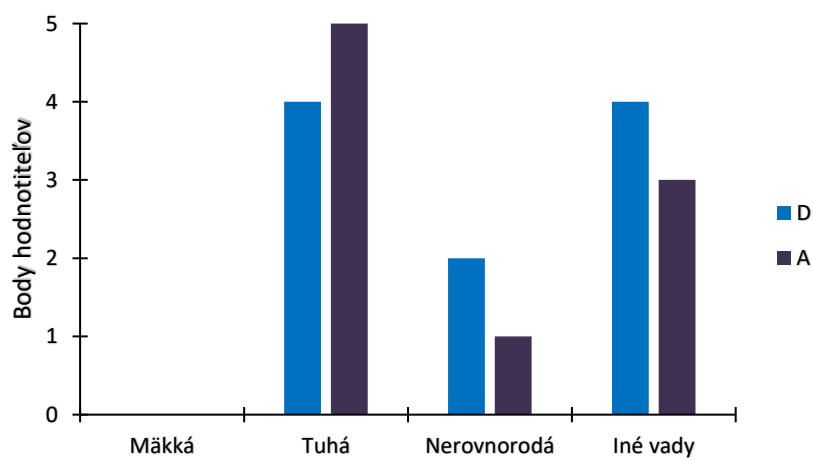
Obrázok 34 Porovnanie senzorickej kvality kontrolnej vzorky a štandardu



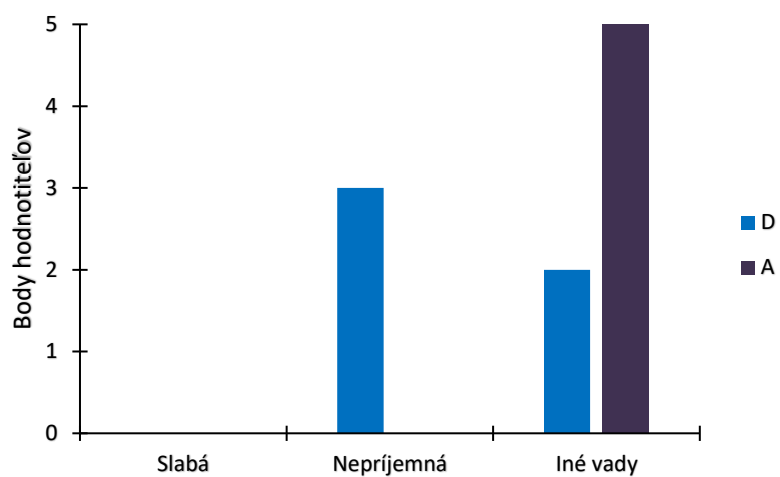
Obrázok 35 Porovnanie senzorickej kvality syrového analógu a štandardu



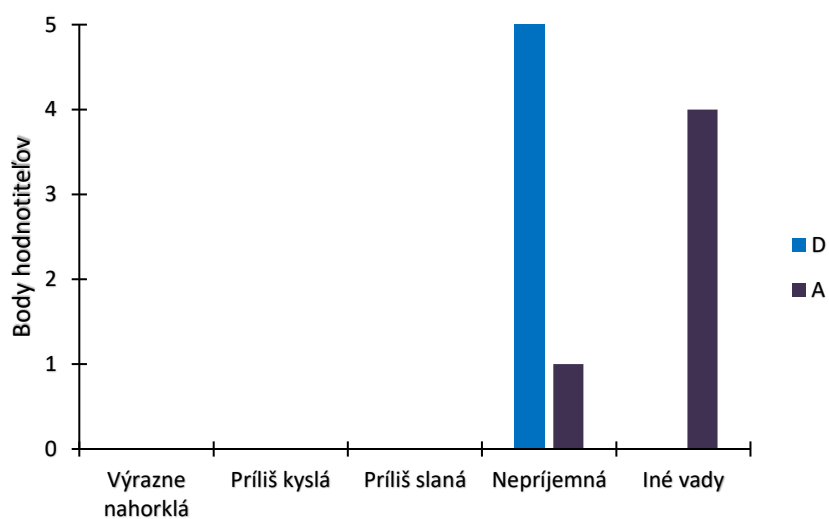
Obrázok 36 Parametre vzhľadu a farby na rezu modelových vzoriek



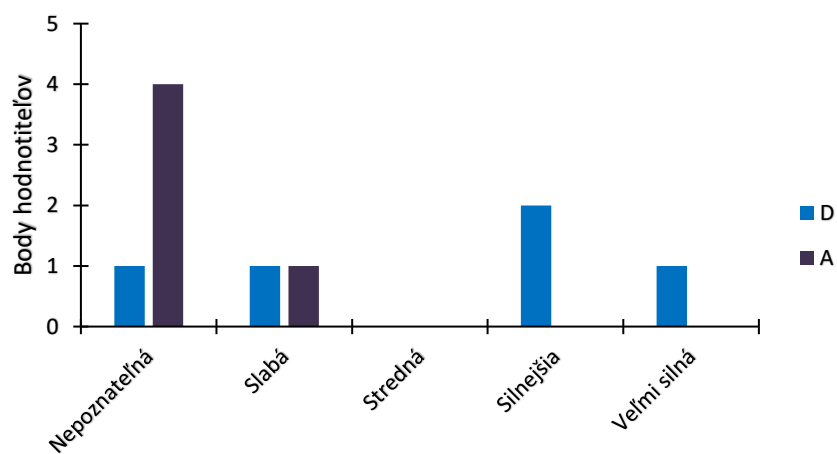
Obrázok 37 Parametre konzistencie (textúry) modelových vzoriek



Obrázok 38 Vôňa modelových vzoriek

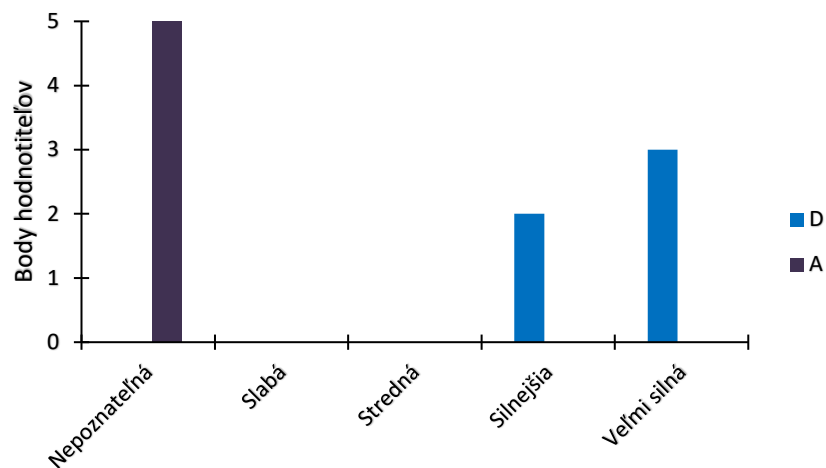


Obrázok 39 Chut' modelových vzoriek

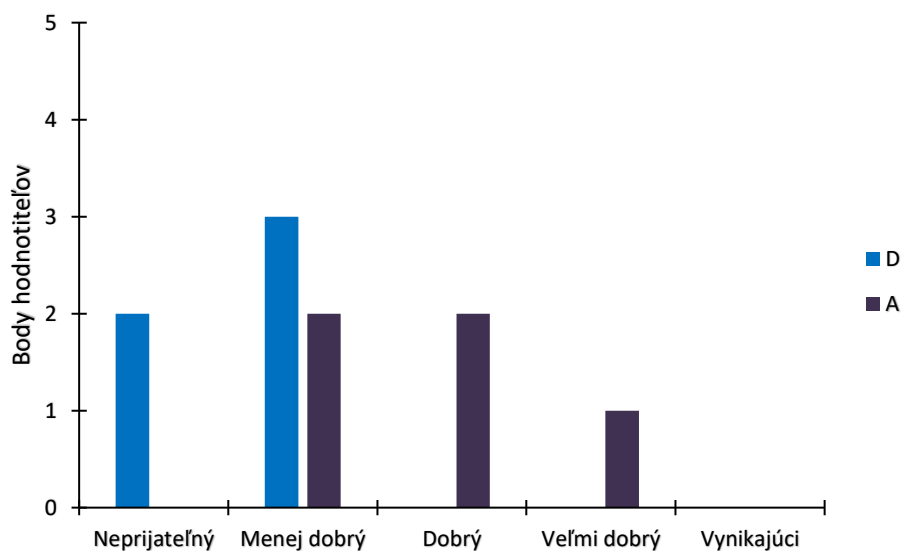


Obrázok 40 Intenzita vône po použití oleji v modelových vzorkách





Obrázok 41 Intenzita chuti po použití oleji v modelových vzorkách



Obrázok 42 Celková prijateľnosť modelových vzoriek

Celkovo, zo všetkých sledovaných parametrov senzorickej kvality dosiahla kontrolná vzorka lepších vlastností oproti štandardu len v prípade vône. Vyrobený analóg nemal ani jeden parameter lepší ako štandard, kladne bola hodnotená len vôňa po použití oleji.

Tabuľka 15 Pripomienky hodnotiteľov k modelovým vzorkám

<b>vzorka:</b>	<b>D</b>	<b>A</b>
konzistencia (textúra)	suchá, rozpadavá, drobivá, zrnitá	suchá, hrudkovitá, drobivá, zrnitá,
vôňa	výrazná a nepríjemná po oleji, intenzívna olejová, prebija syr neštandardná, zaujímavá príjemná, výrazná	kyslá, výraznejšia, pikantnejšia príjemná aróma, plnšia aróma jemná
chuť (flavour)	olejovitá, výrazná a nepríjemná po oleji, mastná, prebija chuť syru, málo soli	málo výrazná, sladšia, nepríjemná textúra, drobivá konzistencia málo soli
celková prijateľnosť vzorky	výrazne olejovitá konzistencia, veľmi výrazný veľmi mastný, bez chuti syra tuhý, suchý, pachuť oleja	nevyhovujúca konzistencia, suchý, drobivý, kyselejšia chuť, menej slaná

Dá sa povedať, že senzorická kvalita vyrobených vzoriek bohužiaľ nebola príliš dobrá, obe modelové vzorky boli prakticky vo všetkých parametroch hodnotené horšie, než obyčajný komerčný eidamský syr. Zlé hodnotenie však nie je spôsobené len samotným prídavkom orechového oleja, ale aj použitou technológiou výroby a dozrievania, ktoré bude potrebné ďalej optimalizovať.

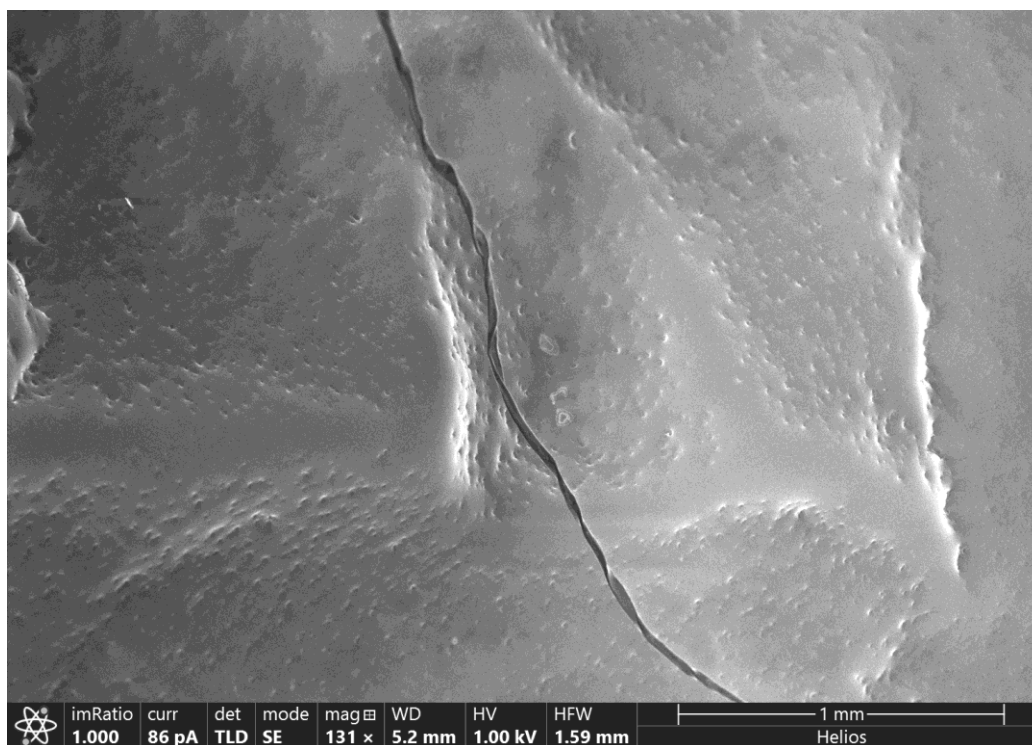
#### 4.5 Štruktúra modelových vzoriek syru a analógu

Pre lepšiu charakterizáciu a celkové pochopenie fyzikálno-chemických dejov, ktoré prebiehajú v syre, resp. syrovom analógu, bola, okrem hlavného cieľa – stanovenie MK a prchavých aromatických látok ako podstaty chuti a vône, venovaná pozornosť aj ich textúre, respektíve mikroštruktúre.

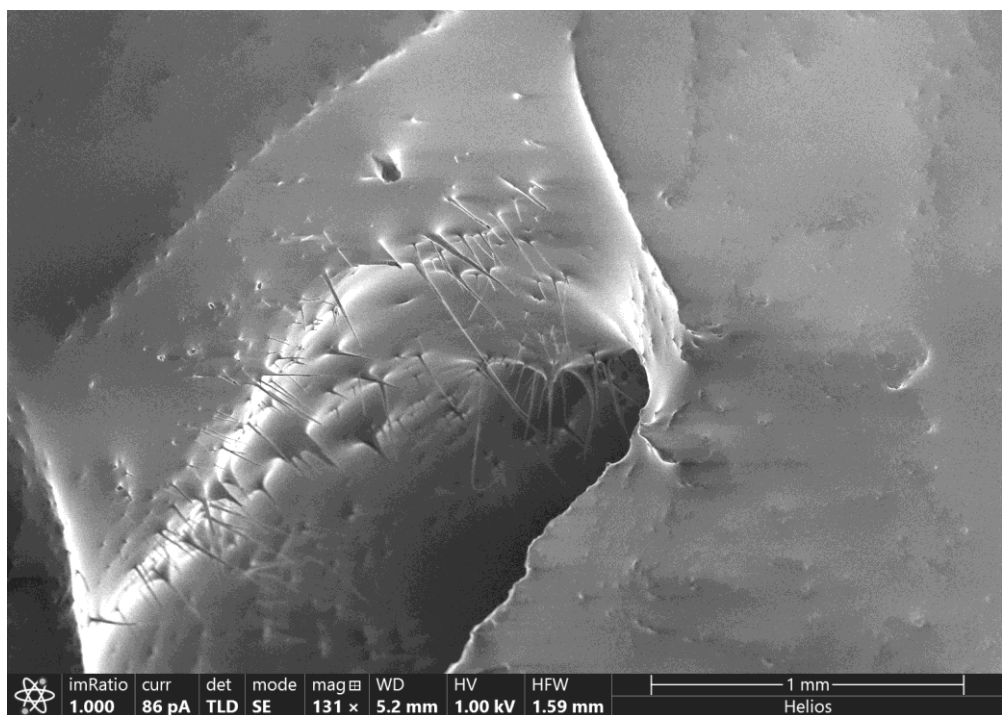
Štruktúra modelových vzoriek bola sledovaná pomocou skenovacej elektrónovej mikroskopie, samotné skenovanie prebiehalo vo firme Thermo Fisher Scientific Brno s. r. o., a vzhľadom k dostupným možnostiam boli zhotovené len povrchové snímky vzoriek na rezu v meradle 0,1 – 1 mm. Rezy pochádzali približne zo stredu modelových vzoriek.

Z fotografií na Obrázok 43 až Obrázok 46 je možné pozorovať určité zmeny v štruktúre syrového analógu oproti kontrolnej vzorke, ako to pozorovali vo svojich prácach Abd El-salam [78] či El-Aidie a kol. [79]. Ak si odmyslíme výrazne ihličky, ktoré pozorujeme na fotografiách vzorky analógu, pozorujeme jemnejšiu a hladšiu povrchovú štruktúru oproti kontrole. Tieto ihličky pravdepodobne vznikli v praskline (pozorovateľná na Obrázok 12), ktorej vznik je možný slabým utlačením syrového zrna pri výrobe alebo k jej vzniku došlo niekedy počas technologického dozrievania, kedy sa na syr už nepôsobilo tlakom. Druhá možnosť sa javí ako pravdepodobnejšia, keďže ihličky pripomínajú „kvapky tekutiny deliacej sa od jej povrchu“ alebo oddeľovanie veľmi viskózne tekutiny od seba.

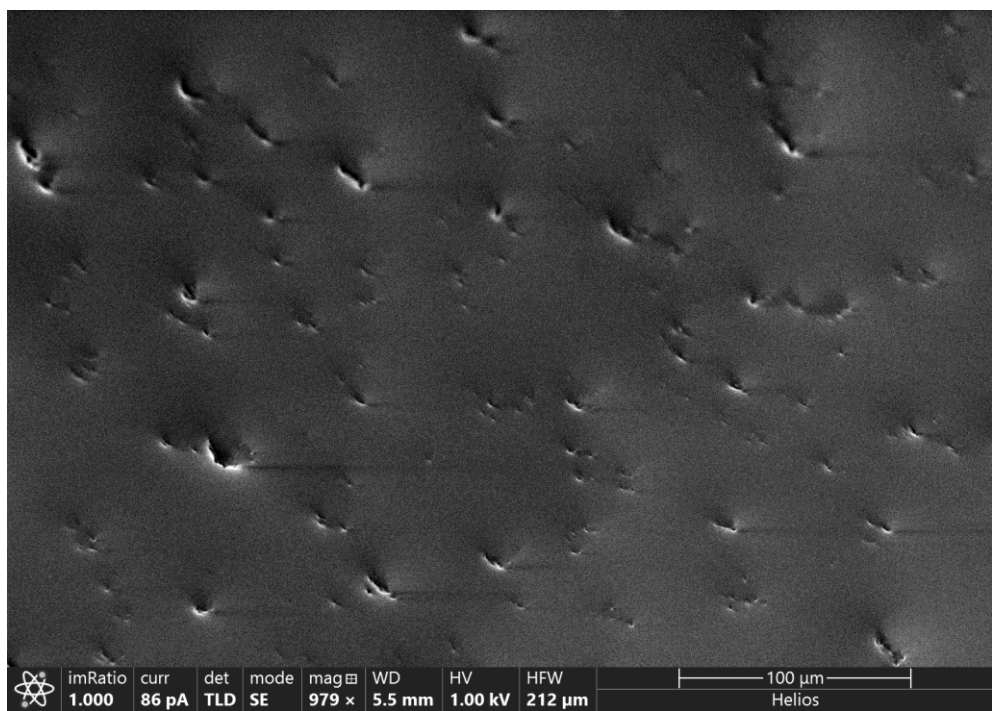
Celkovo sa štruktúra analógu javí kompaktnejšia s menším počtom pórov na povrchu. Z týchto fotografií je teda jasné, že prídavok oleja a jeho následná homogenizácia v mlieku pred výrobou syru, resp. syrového analógu, mala za následok zmenu mikroštruktúry výrobku (analóg bol viditeľne jemnejší a hladší) a ovplyvnila aj fyzikálno-chemické deje, ktoré prebiehajú pri spracovaní a dozrievaní výrobku.



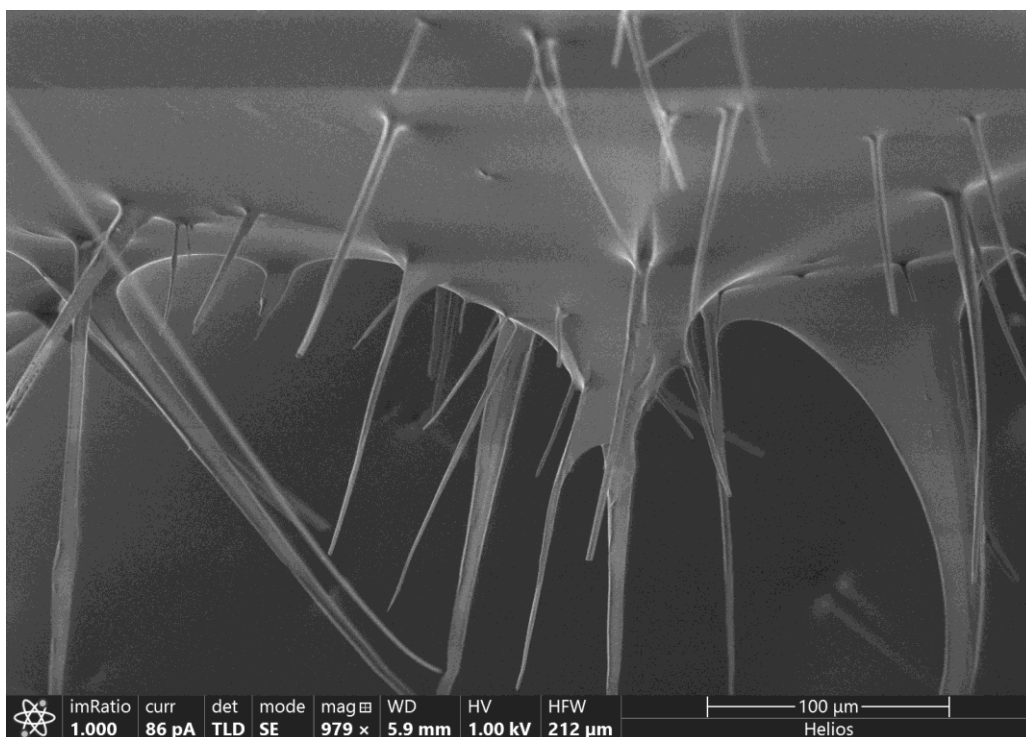
Obrázok 43 Fotografia kontrolnej vzorky (meradlo 1 mm)



*Obrázok 44 Fotografia syrového analógu (meradlo 1 mm)*



*Obrázok 45 Fotografia kontrolnej vzorky (meradlo 0,1 mm)*



*Obrázok 46 Fotografia syrového analógu (meradlo 0,1 mm)*

## 5 ZÁVER

Hlavným cieľom tejto práce bolo vyrobiť a následne charakterizovať syrový analóg s prídavkom orechového (pistáciového) oleja. Technologická výroba modelových vzoriek - syrového analógu (suš. 76 %, tvs 56 %) a kontrolnej vzorky (suš. 68 %, tvs 54 %) zahŕňala konvenčné syrárske metódy a prebiehala v spolupráci s Mendelovou univerzitou. Vzhľadom k menšiemu množstvu vyrobených a analyzovaných vzoriek je ťažšie vyvodzovať obecné závery, ničmenej aj tak dosiahnuté výsledky indikujú niektoré zaujímavé nižšie uvedené poznatky.

Na identifikáciu prchavých látok vo vzorkách bola použitá metóda HS-SPME-GC-MS a následne porovnávanie s dostupnou knižnicou spektier. Semikvantifikácia identifikovaných látok bola realizovaná na základe porovnávania plôch príslušných pík. Celkovo bolo identifikovaných 37 rôznych zlúčenín. Kontrolná vzorka obsahovala o 5 zlúčenín menej, nenachádzali sa v nej okt-1-én-3-ol, cykloheptanol, 3-etyl-2,4-pentadién-1-ol, heptyl-formiát a 2-pentylfurán. Prítomnosť týchto látok bola pravdepodobne spôsobená prídavkom pistáciového oleja. Taktiež bol obsah prchavých látok vyšší vo vzorke s použitím rastlinného oleja, v oboch vzorkách mali hlavné zastúpenie mastné kyseliny s kátkym reťazcom, alkoholy a ketóny.

Mastné kyseliny boli po extrakcii zmesou rozpúšťadiel a následnej esterifikácii na MEMK za použitia BF<sub>3</sub> identifikované pomocou metódy CG-FID na základe porovnávania retenčných časov štandardov MEMK, kvantifikácia prebehla porovnávaním plôch príslušných pík štandardov. Prídavok oleja spôsobil podľa očakávania zvýšenie obsahu nenasýtených mastných kyselín, čo môže mať za následok zvýšenie nutričnej hodnoty produktu.

Zo senzorickej analýzy vyplýva, že kvalita vyrobených vzoriek nebola dobrá. Oproti štandardu (komerčne dostupný eidam, tvs 30 %) vykazovali obe modelové vzorky horšie vlastnosti. Ako hlavné vady hodnotitelia uvádzali popraskaný vzhľad, suchú a drobivú konzistenciu, nepríjemnú olejovitú chuť a vôňu a málo soli. Celkovo bola kontrolná vzorka hodnotená ako dobrá až menej dobrá, analóg menej dobrý až dokonca neprijateľný. Zlé hodnotenie však nie je pravdepodobne spôsobené len samotným prídavkom orechového oleja, ale aj použitou technológiou výroby a dozrievania, ktoré bude potrebné ďalej optimalizovať.

Predpoklad o priaznivom vplyve oleja na mikroštruktúru modelových vzoriek bol podporený pomocou elektrónového mikroskopu. Zo zhotovených snímok vyplýva, že prídavok oleja mal za následok zjemnenie a vyhladenie štruktúry analógu.

Na záver sa dá konštatovať, že prídavok orechového oleja spôsobil určité zmeny vo finálnom výrobku. Syrový analóg bol obohatený o esenciálne mastné kyseliny a rovnako o určité prchavé látky, ktoré pravdepodobne pochádzajú z použitého oleja. Ten spôsobil aj zjemnenie štruktúry. Na druhej strane, jeho prídavok negatívne ovplyvnil senzorickú kvalitu, predovšetkým chuť a vôňu. Celkovo bude do budúcnosti potrebné optimalizovať výrobný proces, hlavne krok lisovania, upraviť dobu dozrievania a taktiež upraviť pomer pridaného oleja, tak aby vznikol senzoricke prijateľný výrobok so zvýšenou nutričnou hodnotou.

## POUŽITÁ LITERATÚRA

- [1] DRDÁK, Milan. *Základy potravinářských technologií spracovania rastlinných a živočíšnych surovín, cereálne a fermentačné technológie uchovávanie, hygiena a ekológia potravín*. Bratislava: Malé Centrum, 1996. ISBN 80-967-0641-1.
- [2] ČR. Vyhláška č. 397/2016 Sb.: Vyhláška o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. In: *Sbírka zákonů ČR*. ročník 2016, 162/2016.
- [3] *Historie tavených sýrů* [online]. [cit. 2019-11-20]. Dostupné z: <https://babinet.cz/clanek-5792-historie-tavenych-syru.html>
- [4] *Sýr a jeho historie* [online]. [cit. 2019-11-20]. Dostupné z: <https://clanky.vareni.cz/syr-a-jeho-historie/>
- [5] FOX, P. F. *Cheese: chemistry, physics, and microbiology*. 3rd ed. London: Elsevier, 2004. ISBN 01-226-3653-8.
- [6] KADLEC, Pavel, Karel MELZUCH a Michal VOLDŘICH. *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. Ostrava: Key Publishing, 2012. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-145-0.
- [7] GAJDŮŠEK, Stanislav. *Mlékařství II*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1998. ISBN 80-715-7342-6.
- [8] BINTSIS, T. a P. PAPADEMAS. An Overview of the Cheesemaking Process. In: *Global Cheesemaking Technology: Cheese Quality and Characteristics*. 1st ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2017, pp. 120–156. ISBN 978-1-119-04615-8.
- [9] FOX, Patrick F., Timothy P. GUINEE, Timothy M. COGAN a Paul L. H. MCSWEENEY. *Fundamentals of Cheese Science*. 2017. DOI: 10.1007/978-1-4899-7681-9.
- [10] O'CALLAGHAN, Y. C., T. P. O'CONNOR a N. M. O'BRIEN. Nutritional Aspects of Cheese. In: FOX, P. F., T. P. GUINEE, T. M. COGAN a P. L. H. MCSWEENEY. *Fundamentals of Cheese Science*. 2nd ed. New York: Springer, 2017, pp. 715–730. ISBN 978-1-4899-7679-6. DOI: 10.1007/978-1-4899-7681-9.
- [11] CABALLERO, Benjamin, Paul M. FINGLAS a Fidel TOLDRÁ. *Encyclopedia of food and health*. Boston: Academic Press is an imprint of Elsevier, [2016]. ISBN 978-0-12-384947-2.
- [12] WALSTRA, Pieter. Casein sub-micelles: do they exist? *International Dairy Journal*. 1999, 9(3-6), 189-192. DOI: 10.1016/S0958-6946(99)00059-X. ISSN 09586946. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095869469900059X>
- [13] MARKIEWICZ-KĘSZYCKA, Maria, Grażyna CZYŻAK-RUNOWSKA, Paulina LIPÍŃSKA a Jacek WÓJTOWSKI. Fatty Acid Profile of Milk - A Review. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*. 2013, 57(2), 135-139. DOI: 10.2478/bvip-2013-0026. ISSN

0042-4870. Dostupné také z: <http://content.sciendo.com/view/journals/bvip/57/2/article-p135.xml>

[14] GÓMEZ-CORTÉS, Pilar, Manuela JUÁREZ a Miguel Angel DE LA FUENTE. *Milk fatty acids and potential health benefits: An updated vision*. 2018, 81, 1-9. DOI: 10.1016/j.tifs.2018.08.014. ISSN 09242244. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224418303431>

[15] UHRÍN, Vladimír. *Mlieko a mliečna žľaza*. Nitra: Fakulta prírodných vied Univerzity Konštantína Filozofa, 2002. Prírodovedec. ISBN 80-805-0511-X.

[16] LINDMARK MÅNSSON, Helena. *Fatty acids in bovine milk fat*. 2008, 52(1). DOI: 10.3402/fnr.v52i0.1821. ISSN 1654-6628. Dostupné také z: <http://foodandnutritionresearch.net/index.php/fnr/article/view/1134>

[17] BRADY, John W. *Introductory food chemistry*. Ithaca: Comstock Publishing Associates, 2013. ISBN 978-0-8014-5075-4.

[18] ROMANO, Raffaele, Anella GIORDANO, Lina CHIANESE, Francesco ADDEO a Salvatore Spagna MUSSO. Triacylglycerols, fatty acids and conjugated linoleic acids in Italian Mozzarella di Bufala Campana cheese. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2011, 24(2), 244-249. DOI: 10.1016/j.jfca.2010.10.004. ISSN 08891575. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157510002814>

[19] BŘEZINA, Pavel, Aleš KOMÁR a Jan HRABĚ. *Technologie, zbožiznalství a hygiena potravin*. Vyškov: VVŠ PV, 2001. ISBN 80-7231-079-.

[20] PIJANOWSKI, Eugeniusz. *Základy chémie a technológie mliekárstva*. Bratislava: Príroda, 1977.

[21] DÜSTERHÖFT, Eva-Maria, Wim ENGELS a Thom HUPPERTZ. Gouda and Related Cheeses. *Cheese*. Elsevier, 2017, 2017, , 865-888. DOI: 10.1016/B978-0-12-417012-4.00034-X. ISBN 9780124170124. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978012417012400034X>

[22] DÜSTERHÖFT, E. M, W ENGELS a T HUPPERTZ. *Global Cheesemaking Technology: Cheese Quality and Characteristics: Dutch-type cheeses*. New Jersey: John Wiley, 2017. ISBN 978-1-119-04615-8.

[23] FOX, Patrick F. a Paul L.H. MCSWEENEY. Cheese: An Overview. *Cheese*. Elsevier, 2017, 2017, , 5-21. DOI: 10.1016/B978-0-12-417012-4.00001-6. ISBN 9780124170124. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124170124000016>

[24] SHAHIDI, Fereidoon. *Handbook of antioxidants for food preservation*. Waltham, MA, USA: Woodhead Publishing is an imprint of Elsevier, [2015]. Woodhead Publishing in food science, technology, and nutrition, no. 276. ISBN 978-1-78242-089-7.



- [25] KINDSTEDT, Paul S. The Basics of Cheesemaking. *Microbiology Spectrum*. 2013, 1(1). DOI: 10.1128/microbiolspec.CM-0002-2012. ISSN 2165-0497. Dostupné také z: <http://www.asmscience.org/content/journal/microbiolspec/10.1128/microbiolspec.CM-0002-2012>
- [26] BACHMANN, Hans-Peter. Cheese analogues: a review. *International Dairy Journal*. 2001, 11(4-7), 505-515. DOI: 10.1016/S0958-6946(01)00073-5. ISSN 09586946. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694601000735>
- [27] GUINEE, T.P., M. CARIC a M KALÁB. Pasteurized processed cheese and substitute/imitation cheese products. *Major Cheese Groups*. Elsevier, 2004, 2004, , 349-394. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. DOI: 10.1016/S1874-558X(04)80052-6. ISBN 9780122636530. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1874558X04800526>
- [28] SHAW, MICHAEL. Subject: Novel cheeses and cheese-making processes. *International Journal of Dairy Technology*. 1984, 37(1), 27-31. DOI: 10.1111/j.1471-0307.1984.tb02278.x. ISSN 1364-727X. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1471-0307.1984.tb02278.x>
- [29] BADEM, Abdullah a Gürkan UÇAR. Cheese Analogues. *Journal of Food and Dairy Technology*. 2016, 4(3). 2321-6204.
- [30] MARAPANA, RAUJ, CG KALUARACHCHI, KHGK KODAGODA a RT SERASINHE. Development of cheese analogue by substitution of milk fat from vegetable fats. *International Journal of Food Science and Nutrition*. 2017, 2(4). ISSN 2455-4898
- [31] ZOIDOU, Evangelia. A New Whey Cheese Analogue Made from Whey Protein Concentrate and Vegetable Fat with 15% Olive Oil. *Journal of Nutritional Medicine and Diet Care*. 2016, 2(2). DOI: 10.23937/2572-3278.1510017. ISSN 25723278. Dostupné také z: <https://clinmedjournals.org/articles/jnm/journal-of-nutritional-medicine-and-diet-care-jnm-2-017.php?jid=jnm>
- [32] CATALÁN, Luis, Manuel ALVAREZ-ORTÍ, Arturo PARDO-GIMÉNEZ, Ricardo GÓMEZ, Adrián RABADÁN a José E. PARDO. Pistachio oil: A review on its chemical composition, extraction systems, and uses. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2016, 119(5). DOI: 10.1002/ejlt.201600126. ISSN 1438-7697. Dostupné také z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ejlt.201600126>
- [33] FALASCA, M., I. CASARI a T. MAFFUCCI. Cancer Chemoprevention With Nuts. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*. 2014, 106(9), dju238-dju238. DOI: 10.1093/jnci/dju238. ISSN 0027-8874. Dostupné také z: <https://academic.oup.com/jnci/article-lookup/doi/10.1093/jnci/dju238>
- [34] BARBOUR, Jayne A., Peter R. C. HOWE, Jonathan D. BUCKLEY, Janet BRYAN a Alison M. COATES. Nut consumption for vascular health and cognitive function. *Nutrition Research Reviews*. 2014, 27(1), 131-158. DOI: 10.1017/S0954422414000079. ISSN 0954-

4224. Dostupné také z: [https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0954422414000079/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0954422414000079/type/journal_article)

[35] TSANTILI, E., C. TAKIDELLI, M.V. CHRISTOPOULOS, E. LAMBRINEA, D. ROUSKAS a P.A. ROUSSOS. Physical, compositional and sensory differences in nuts among pistachio (*Pistachia vera* L.) varieties. *Scientia Horticulturae*. 2010, 125(4), 562-568. DOI: 10.1016/j.scienta.2010.04.039. ISSN 03044238. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423810001949>

[36] CARBONELL-BARRACHINA, Ángel A, Houssem MEMMI, Luis NOGUERA-ARTIAGA, María del Carmen GIJÓN-LÓPEZ, Rafał CIAPA a David PÉREZ-LÓPEZ. Quality attributes of pistachio nuts as affected by rootstock and deficit irrigation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2015, 95(14), 2866-2873. DOI: 10.1002/jsfa.7027. ISSN 00225142. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.7027>

[37] GIVIANRAD, M. H., M. SABER-TEHRANI, S. A. JAFARI MOHAMMADI, María del Carmen GIJÓN-LÓPEZ, Rafał CIAPA a David PÉREZ-LÓPEZ. Chemical composition of oils from wild almond (*Prunus scoparia*) and wild pistachio (*Pistacia atlantica*). *Grasas y Aceites*. 2013, 64(1), 77-84. DOI: 10.3989/gya.070312. ISSN 1988-4214. Dostupné také z: <http://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/view/1411/1406>

[38] ARENA, E., S. CAMPISI, B. FALLICO, E. MACCARONE, Rafał CIAPA a David PÉREZ-LÓPEZ. Distribution of fatty acids and phytosterols as a criterion to discriminate geographic origin of pistachio seeds. *Food Chemistry*. 2007, 104(1), 403-408. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.09.029. ISSN 03088146. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814606007321>

[39] MIRALIKBARI, Homan, Fereidoon SHAHIDI, B. FALLICO, E. MACCARONE, Rafał CIAPA a David PÉREZ-LÓPEZ. Oxidative Stability of Tree Nut Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008, 56(12), 4751-4759. DOI: 10.1021/jf8000982. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf8000982>

[40] BRUNNER, Gerd, Fereidoon SHAHIDI, B. FALLICO, E. MACCARONE, Rafał CIAPA a David PÉREZ-LÓPEZ. Supercritical fluids: technology and application to food processing. *Journal of Food Engineering*. 2005, 67(1-2), 21-33. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2004.05.060. ISSN 02608774. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877404003383>

[41] HERRERO, Miguel, María CASTRO-PUYANA, José A. MENDIOLA, Elena IBAÑEZ, Rafał CIAPA a David PÉREZ-LÓPEZ. Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds: technology and application to food processing. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2013, 43(1-2), 67-83. DOI: 10.1016/j.trac.2012.12.008. ISSN 01659936. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016599361200372X>

[42] SENA-MORENO, Estela, José E. PARDO, Arturo PARDO-GIMÉNEZ, Ricardo GÓMEZ, Manuel ALVAREZ-ORTÍ a David PÉREZ-LÓPEZ. Differences in Oils from Nuts

Extracted by Means of Two Pressure Systems: technology and application to food processing. *International Journal of Food Properties*. 2016, 19(12), 2750-2760. DOI: 10.1080/10942912.2016.1144068. ISSN 1094-2912. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2016.1144068>

[43] ZHANG, Jun, Penny M. KRIS-ETHERTON, Jerry T. THOMPSON a John P. VANDEN HEUVEL. Effect of pistachio oil on gene expression of IFN-induced protein with tetratricopeptide repeats 2: A biomarker of inflammatory response. *Molecular nutrition & food research*. 2010, 54(S1), S83-S92. DOI: 10.1002/mnfr.200900244. ISSN 16134125. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/mnfr.200900244>

[44] JANČÁŘOVÁ, Irena a Luděk JANČÁŘ. *Analytická chemie*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. ISBN 978-807-1576-471.

[45] KUBÁŇ, Vlastimil a Petr KUBÁŇ. *Analýza potravin*. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007. ISBN 978-80-7375-036-7.

[46] PROŠKOVÁ, Alexandra, Jiří KUČERA a Zdenka KOPICOVÁ. Porovnání kysele a bazicky katalyzované transesterifikace kafilerního tuku methanolem. *Chemické listy*. 2009, 103, 1034-1036.

[47] LÓPEZ-LÓPEZ, A., A. I. CASTELLOTE-BARGALLÓ a M. C. LÓPEZ-SABATER. Comparison of two direct methods for the determination of fatty acids in human milk. *Chromatographia*. 2001, 54(11-12), 743-747. DOI: 10.1007/BF02492493. ISSN 0009-5893. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/BF02492493>

[48] CHRISTIE, William W. *Lipid library* [online]. [cit. 2020-02-29]. Dostupné z: <http://lipidlibrary.aocs.org/Analysis/content.cfm?ItemNumber=40374>

[49] FIFIELD, F.W. *Principles and Practice of Analytical Chemistry*. 4th Ed. London: Blackie Academic and Professional, 1995. ISBN 07-514-0226-5.

[50] SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie*. Brno: VUTIUM, 2000. ISBN 80-214-1742-0.

[51] ALEWIJN, M., E.L. SLIWINSKI a J.T.M. WOUTERS. Production of fat-derived (flavour) compounds during the ripening of Gouda cheese. *International Dairy Journal*. 2005, 15(6-9), 733-740. DOI: 10.1016/j.idairyj.2004.09.009. ISSN 09586946. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694604002821>

[52] VAN LEUVEN, I., T. VAN CAELENBERG a P. DIRINCK. Aroma characterisation of Gouda-type cheeses. *International Dairy Journal*. 2008, 18(8), 790-800. DOI: 10.1016/j.idairyj.2008.01.001. ISSN 09586946. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694608000046>

[53] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-863-6907-2.

- [54] CLEMENT, R. E. *Gas chromatography: biochemical, biomedical, and clinical applications*. New York: John Wiley, 1990. ISBN 04-710-1048-0.
- [55] ROUESSAC, Francis. a Annick. ROUESSAC. *Chemical analysis: modern instrumentation methods and techniques*. 2nd ed. Chichester, 2007. ISBN 978-0-470-85903-2.
- [56] SKOOG, Douglas A. *Principles of instrumental analysis*. 4th ed. Fort Worth: Harcourt Brace College Publishers, 1992. ISBN 00-307-5398-8.
- [57] SMOLKOVÁ, Eva, Ladislav FELTL a Věra PACÁKOVÁ. *Plynová chromatografie 2.: Instrumentální část*. Praha: Univerzita Karlova, 1983.
- [58] DANISH, Mohammed a Maniruddin NIZAMI. Complete fatty acid analysis data of flaxseed oil using GC-FID method. *Data in Brief*. 2019, 23. DOI: 10.1016/j.dib.2019.103845. ISSN 23523409. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352340919301969>
- [59] LOBOS-ORTEGA, I., I. REVILLA, M.I. GONZÁLEZ-MARTÍN, J.M. HERNÁNDEZ-HIERRO, A. VIVAR-QUINTANA a G. GONZÁLEZ-PÉREZ. Conjugated linoleic acid contents in cheeses of different compositions during six months of ripening. *Czech Journal of Food Sciences*. 2012, 30(3), 220-226. DOI: 10.17221/415/2010-CJFS. ISSN 12121800.
- [60] DELGADO, Francisco José, José GONZÁLEZ-CRESPO, Ramón CAVA, Jesús GARCÍA-PARRA a Rosario RAMÍREZ. Characterisation by SPME–GC–MS of the volatile profile of a Spanish soft cheese P.D.O. Torta del Casar during ripening. *Food Chemistry*. 2010, 118(1), 182-189. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.04.081. ISSN 03088146. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814609005512>
- [61] MALLIA, S., E. FERNÁNDEZ-GARCÍA a J. OLIVIER BOSSET. Comparison of purge and trap and solid phase microextraction techniques for studying the volatile aroma compounds of three European PDO hard cheeses. *International Dairy Journal*. 2005, 15(6-9), 741-758. DOI: 10.1016/j.idairyj.2004.11.007. ISSN 09586946. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694604002948>
- [62] KATAOKA, Hiroyuki, Heather L LORD a Janusz PAWLISZYN. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A*. 2000, 880(1-2), 35-62. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)00309-5. ISSN 00219673. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967300003095>
- [63] PINHO, O., I.M.P.L.V.O. FERREIRA a M. FERREIRA. Discriminate analysis of the volatile fraction from “Terrincho” ewe cheese: correlation with flavour characteristics. *International Dairy Journal*. 2004, 14(5), 455-464. DOI: 10.1016/j.idairyj.2003.08.007. ISSN 09586946. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694603002000>
- [64] GUILLÉN, M.D., M.L. IBARGOITIA, P. SOPELANA, G. PALENCIA a M. FRESNO. Components Detected by Means of Solid-Phase Microextraction and Gas

Chromatography/Mass Spectrometry in the Headspace of Artisan Fresh Goat Cheese Smoked by Traditional Methods. *Journal of Dairy Science*. 2004, 87(2), 284-299. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73167-7. ISSN 00220302. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030204731677>

[65] NORONHA, Nessa, Denis A. CRONIN, E. Dolores O'RIORDAN a Michael O'SULLIVAN. Flavouring of imitation cheese with enzyme-modified cheeses (EMCs): Sensory impact and measurement of aroma active short chain fatty acids (SCFAs). *Food Chemistry*. 2008, 106(3), 905-913. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.06.059. ISSN 03088146. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030881460700653X>

[66] ŠTULÍK, Karel. Analytické separační metody. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0852-9.

[67] PANSERI, S., I. GIANI, T. MENTASTI, F. BELLAGAMBA, F. CAPRINO a V.M. MORETTI. Determination of flavour compounds in a mountain cheese by headspace sorptive extraction-thermal desorption-capillary gas chromatography-mass spectrometry. *LWT - Food Science and Technology*. 2008, 41(2), 185-192. DOI: 10.1016/j.lwt.2007.02.011. ISSN 00236438. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643807001028>

[68] POVEDA, Justa María, Eva SÁNCHEZ-PALOMO, María Soledad PÉREZ-COELLO a Lourdes CABEZAS. Volatile composition, olfactometry profile and sensory evaluation of semi-hard Spanish goat cheeses. *Dairy Science and Technology*. 2008, 88(3), 355-367. DOI: 10.1051/dst:2007021. ISSN 1958-5586. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1051/dst:2007021>

[69] POKORNÝ, Jan, Zdeňka PANOVSÁ a Helena VALENTOVÁ. *Senzorická analýza potravin*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1998. ISBN 80-708-0329-0.

[70] PRÍBELA, Alexander. *Analýza potravin*. Bratislava: Slovenská technická univerzita, 1991. ISBN 80-227-0374-5.

[71] HÁLKOVÁ, Jana, Marie RUMÍŠKOVÁ a Jana RIEGLOVÁ. *Analýza potravin*. 2. vyd. Újezd u Brna: I. Straka, 2001. ISBN 80-864-9402-0.

[72] POKORNÝ, Jan, Helena VALENTOVÁ a František PUDIL. *Senzorická analýza potravin: laboratorní cvičení*. 2. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1997. ISBN 80-708-0278-2.

[73] YE, A., J. CUI, A. TANEJA, X. ZHU a H. SINGH. Evaluation of processed cheese fortified with fish oil emulsion. *Food Research International*. 2009, 42(8), 1093-1098. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.05.006. ISSN 09639969. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S096399690900163X>

[74] HOUSE, Kelly A, Terry E ACREE, A. TANEJA, X. ZHU a H. SINGH. Sensory impact of free fatty acids on the aroma of a model Cheddar cheese. *Food Quality and Preference*.

2002, 13(7-8), 481-488. DOI: 10.1016/S0950-3293(02)00134-9. ISSN 09503293. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0950329302001349>

[75] RYFFEL, S., P. PICCINALI a U. BÜTIKOFER. Sensory descriptive analysis and consumer acceptability of selected Swiss goat and sheep cheeses. *Small Ruminant Research*. 2008, 79(1), 80-86. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2008.07.006. ISSN 09214488. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0921448808001351>

[76] LOBATO-CALLEROS, C., A. SOSA-PÉREZ, J. RODRÍGUEZ-TAFOYA, O. SANDOVAL-CASTILLA, C. PÉREZ-ALONSO a E.J. VERNON-CARTER. Structural and textural characteristics of reduced-fat cheese-like products made from W1/O/W2 emulsions and skim milk. *LWT - Food Science and Technology*. 2008, 41(10), 1847-1856. DOI: 10.1016/j.lwt.2008.01.006. ISSN 00236438. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643808000200>

[77] MONTESINOS-HERRERO, Clara, David C. COTTELL, E. DOLORES O'RIORDAN a Michael O'SULLIVAN. Partial replacement of fat by functional fibre in imitation cheese: Effects on rheology and microstructure. *International Dairy Journal*. 2006, 16(8), 910-919. DOI: 10.1016/j.idairyj.2005.08.008. ISSN 09586946. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694605001731>

[78] A. ABD EL-SALAM, Baraka. Effect of Milk Fat Replacement with Vegetable Oil and/or Whey Protein Concentrate on Microstructure, Texture and Sensory Characteristics of Fresh Soft Cheese. *International Journal of Dairy Science*. 2015, 10(3), 117-125. DOI: 10.3923/ijds.2015.117.125. ISSN 18119743. Dostupné také z: <http://www.scialert.net/abstract/?doi=ijds.2015.117.125>

[79] A. M. EL-AIDIE, Safaa, Ebtisam I. GHITA, Samia M. EL-DIEB a Hosam-Eddin M. EL-GARHI. Physicochemical, Microstructural and Sensory Impact of Fat Replacers on Low-fat Edam Cheese Manufactured from Buffalo's Milk. *International Journal of Advancement in Life Sciences Research*. 2019, 2(3), 11-21. DOI: 10.31632/ijalsr.2019v02i03.002. ISSN 25814877. Dostupné také z: <http://www.ijalsr.org/index.php/journal/article/view/59/55>

[80] JO, Y., D.M. BENOIST, A. AMEERALLY a M.A. DRAKE. Sensory and chemical properties of Gouda cheese. *Journal of Dairy Science*. 2018, 101(3), 1967-1989. DOI: 10.3168/jds.2017-13637. ISSN 00220302. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217311839>

[81] CURIONI, P.M.G. a J.O. BOSSET. Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. *International Dairy Journal*. 2002, 12(12), 959-984. DOI: 10.1016/S0958-6946(02)00124-3. ISSN 09586946. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694602001243>

[82] VARMING, Camilla, Lene Tranberg ANDERSEN, Mikael Agerlin PETERSEN a Ylva ARDÖ. Flavour compounds and sensory characteristics of cheese powders made from matured cheeses. *International Dairy Journal*. 2013, 30(1), 19-28. DOI:

10.1016/j.idairyj.2012.11.002. ISSN 09586946. Dostupné také z:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694612002567>

[83] ZABALETA, Laura, Karine GOURRAT, Luis Javier R. BARRON, Marta ALBISU a Elisabeth GUICHARD. Identification of odour-active compounds in ewes' raw milk commercial cheeses with sensory defects. *International Dairy Journal*. 2016, 58, 23-30. DOI: 10.1016/j.idairyj.2016.01.018. ISSN 09586946. Dostupné také z:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694616000418>

[84] SHIOTA, Makoto, Ai IWASAWA, Ai SUZUKI-IWASHIMA a Fumiko IIDA. Effects of Flavor and Texture on the Sensory Perception of Gouda-Type Cheese Varieties during Ripening Using Multivariate Analysis. *Journal of Food Science*. 2015, 80(12), C2740-C2750. DOI: 10.1111/1750-3841.13135. ISSN 00221147. Dostupné také z:  
<http://doi.wiley.com/10.1111/1750-3841.13135>

[85] SONMEZDAG, Ahmet Salih, Hasim KELEBEK a Serkan SELLI. Pistachio oil (*Pistacia vera* L. cv. Uzun): Characterization of key odorants in a representative aromatic extract by GC-MS-olfactometry and phenolic profile by LC-ESI-MS/MS. *Food Chemistry*. 2018, 240, 24-31. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.07.086. ISSN 03088146. Dostupné také z:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814617312396>

[86] LING, Bo, Xuanmin YANG, Rui LI a Shaojin WANG. Physicochemical properties, volatile compounds, and oxidative stability of cold pressed kernel oils from raw and roasted pistachio (*Pistacia vera* L. Var Kerman). *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2016, 118(9), 1368-1379. DOI: 10.1002/ejlt.201500336. ISSN 14387697. Dostupné také z:  
<http://doi.wiley.com/10.1002/ejlt.201500336>

[87] JELÍNEK, Pavel, Prokop HAPALA a Vladimír CHÁB. Rastrovací a tunelová mikroskopie : Jitro a poledne kouzelníků. *Vesmír*. 2010, 89(5). ISSN 1214-4029. Dostupné také z: <https://vesmir.cz/cz/casopis/archiv-casopisu/2010/cislo-5/rastrovaci-tunelova-mikroskopie.html>

[88] KOUŘIMSKÁ, Lenka. *Principy Senzorické Analýzy: Zavádění nových metod rozborů a technologických postupů u prvovýrobců a zpracovatelů mléka*. Praha, 2008. Dostupné také z: [http://www.uniconsulting.cz/download/ucebni-text/Zavadeni\\_novych\\_metod.pdf](http://www.uniconsulting.cz/download/ucebni-text/Zavadeni_novych_metod.pdf)

## 6 ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK

AAL	Aromaticky aktívne látky
DAG	Diacylglyceroly
FID	Plameňovo-ionizačný detektor (Flame Ionization Detector)
CG	Plynová chromatografia (Gas Chromatography)
CLA	Konjungovaná kyselina linolová
HS	Headspace
MAG	Monoacylglyceroly
MEMK	Metylestery mastných kyselín
MK	Mastné kyseliny
MUFA	Mononenasýtené mastné kyseliny (Monounsaturated Fatty Acids)
MS	Hmotnostná detekcia (Mass Spectrometry)
PUFA	Polynenasýtené mastné kyseliny (Polyunsaturated Fatty Acids)
SFA	Nasýtené mastné kyseliny (Saturated Fatty Acids)
SPME	Mikroextrakcia pevnou fázou (Solid Phase Microextraction)
TAG	Triacylglyceroly
TVS	Tuk v sušine
VMK	Voľné mastné kyseliny
VVTPH	Obsah vody v tukoprotej sušine



## **7 PRÍLOHY**

Príloha 1	Formulár na senzorickú analýzu analógov
Príloha 2	Chromatogram prchavých látok, vzorka A
Príloha 3	Chromatogram prchavých látok, vzorka D
Príloha 4	Chromatogram viazaných mastných kyselín, vzorka A
Príloha 5	Chromatogram viazaných mastných kyselín, vzorka D
Príloha 6	Chromatogram voľných mastných kyselín, vzorka A
Príloha 7	Chromatogram voľných mastných kyselín, vzorka D

Príloha 1:

### **Senzorické hodnotení analogů**

Sýr Eidamská cihla 30% (standard) – optimální vlastnosti

**Vzhled:** povrch čistý, uzavřený.

**Vzhled na řezu:** s menším počtem pravidelných ok nebo bez ok.

**Barva na řezu** smetanově až slámově žlutá, stejnorodá

**Konzistence** (textura) celistvá, pružná, u sýrů 30 % tvs tužší

**Chut' a vůně** charakteristická jemně sýrová, příjemně mléčně nakyslá, mírná hořkomandlová příchut'.

### **Kód vzorku**

Vždy zakroužkujte Vaše odpovědi, příp. doplňte vlastním popisem

#### **Vzhled a barva na řezu**

Lepší/horší než standard

Proč?

Barva příliš světlá/tmavá, netypická, nerovnoměrná

Velká oka, nepravidelná oka, velký počet ok, popraskaný, jiná vada nebo příp. v čem je lepší než standard (popsat)

#### **Konzistence (textura)**

**(hodnoťte zmáčknutím mezi prsty, potom v ústech při ukousnutí, žvýkání a polykání)**

Lepší/horší než standard

Proč?

Příliš měkká/tuhá, nestejnorodá, jiná vada nebo příp. v čem je lepší než standard (popsat)

#### **Vůně**

Lepší/horší než standard

Proč?

Příliš slabá, nepříjemná (popsat), jiná vada nebo příp. v čem je lepší než standard (popsat)

#### **Vůně po použitém oleji**

1. Neznatelná – slabá – střední – silnější - velmi silná

2. Příjemná - nepříjemná

**Chut' (flavour = komplexní pocit v ústech při konzumaci)**

Lepší/horší než standard

Proč?

Výrazně nahořklá, příliš kyselá, příliš slaná, nepříjemná (popsat), jiná vada nebo příp. v čem je lepší než standard (popsat)

**Chut' po použitém oleji**

1. Neznatelná – slabá – střední – silnější - velmi silná

2. Příjemná - nepříjemná

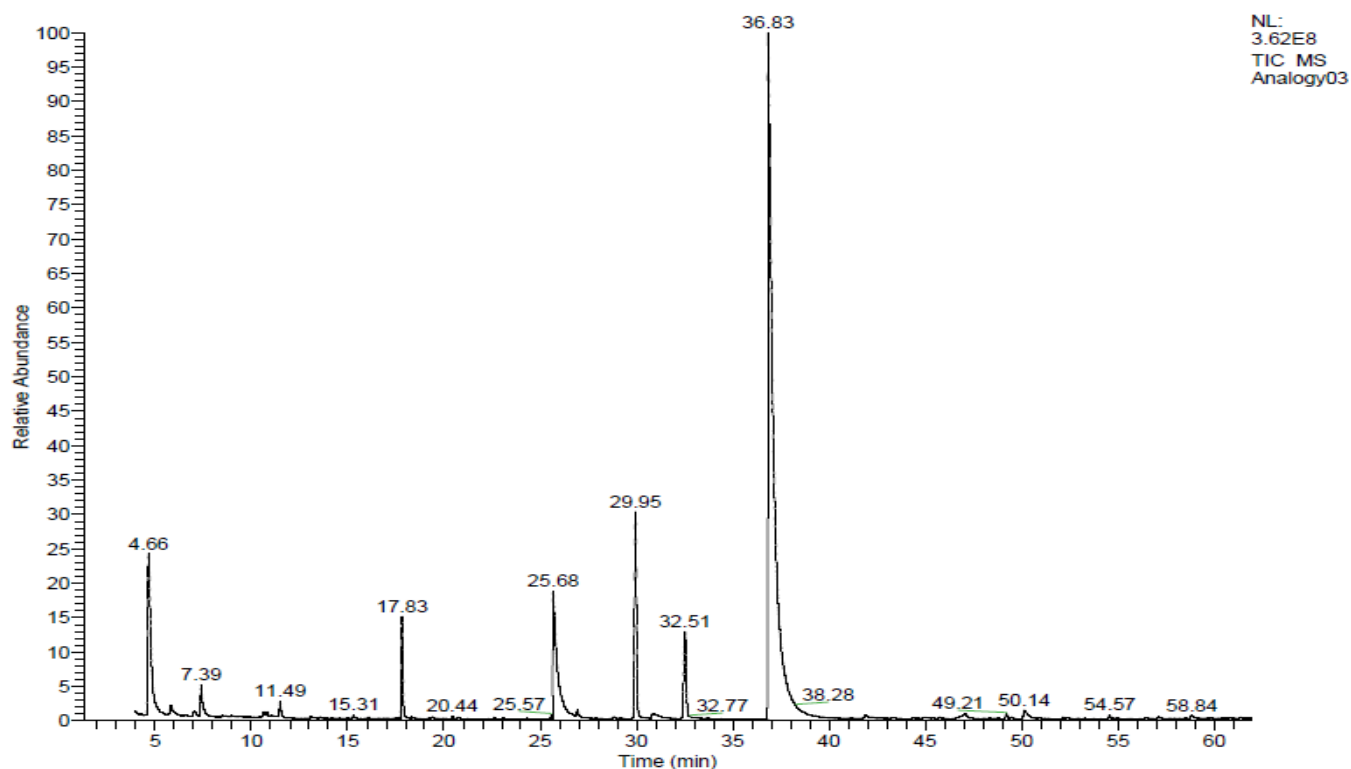
**Celková přijatelnost vzorku**

Celkově byste vzorek hodnotili jako (berte v úvahu všechny výše zmíněné vlastnosti):

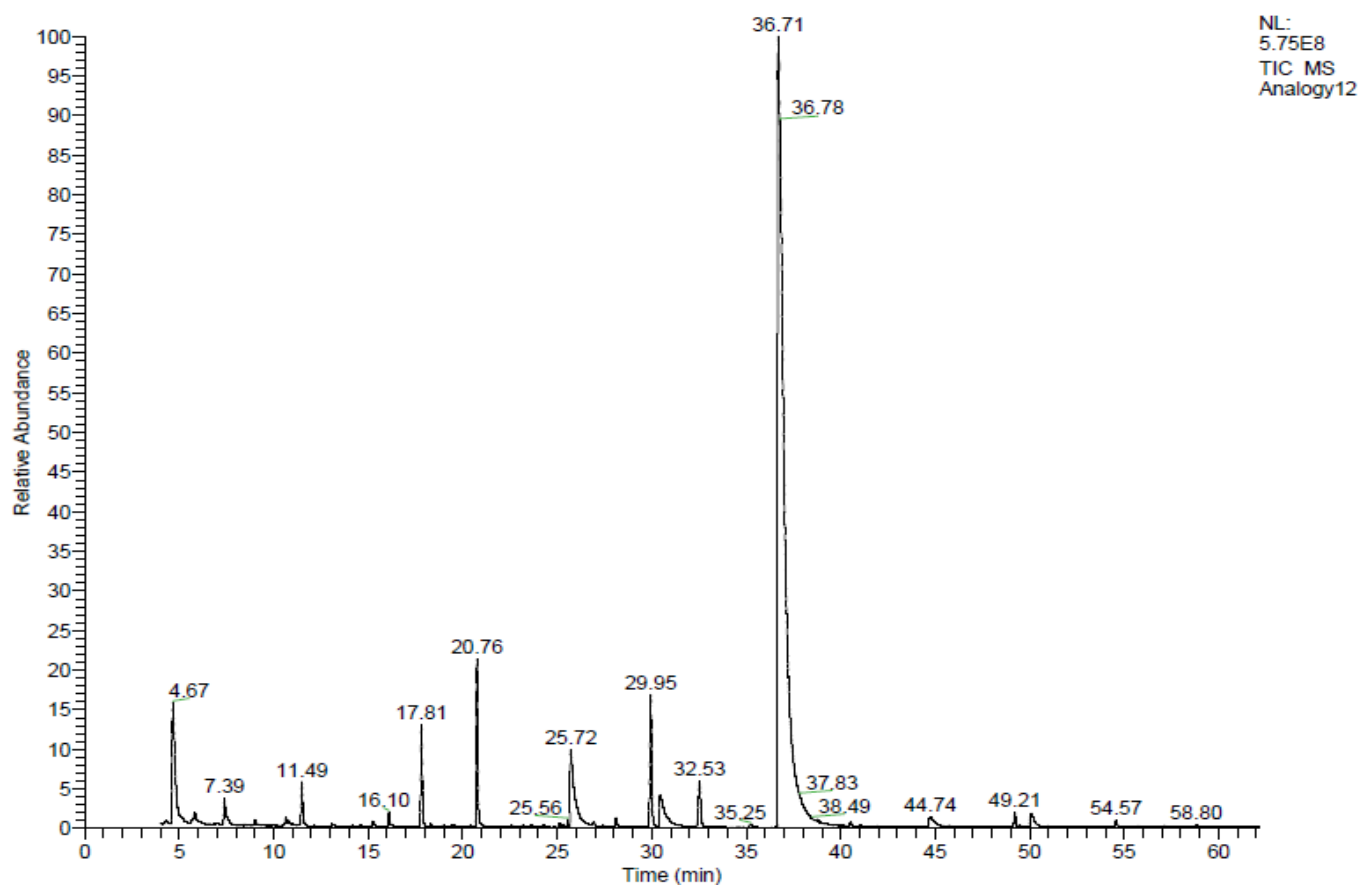
Nepřijatelný - méně dobrý - dobrý - velmi dobrý - vynikající

Proč?

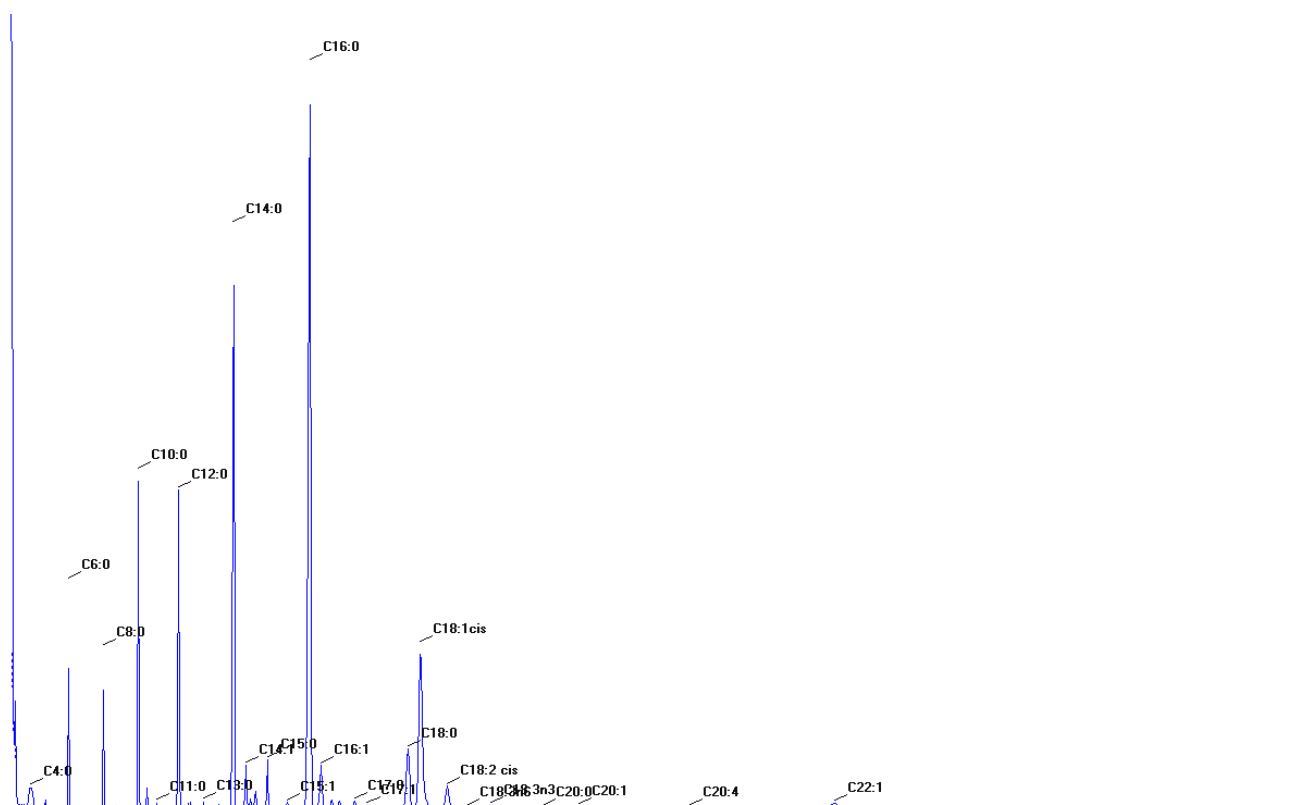
Príloha 2: Chromatogram prchavých látok, vzorka A; identifikácia zlúčenín vid' Tabuľka 12



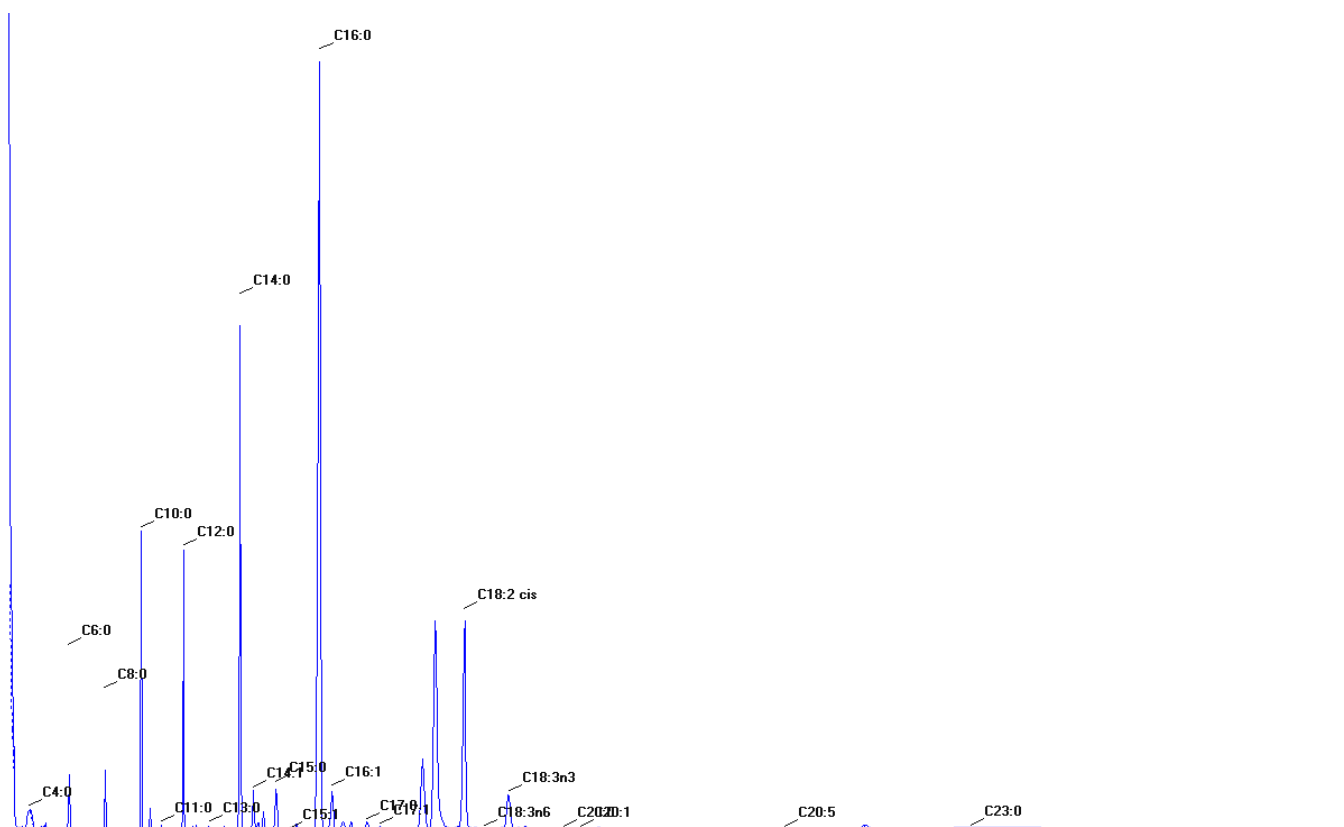
Príloha 3: Chromatogram prchavých látok, vzorka D; identifikácia zlúčenín vid' Tabuľka 12



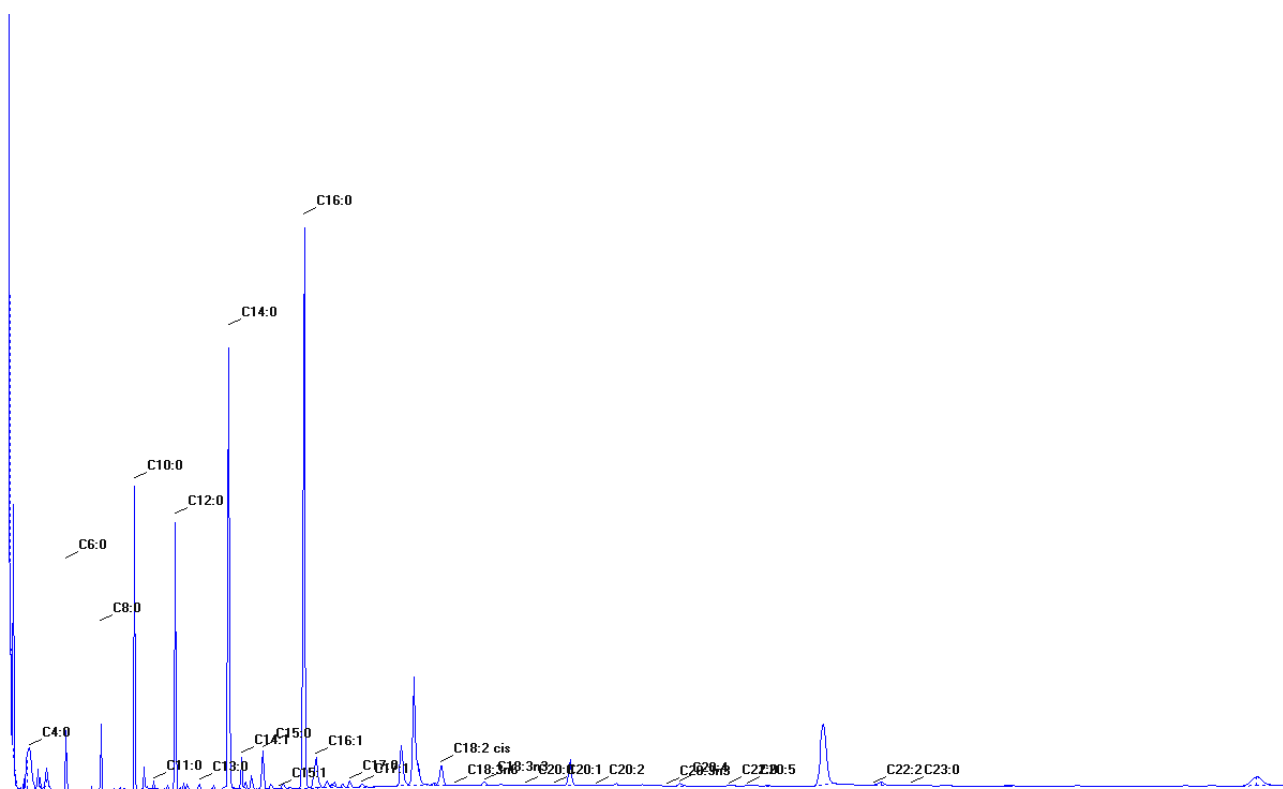
Príloha 4: Chromatogram viazaných mastných kyselín, vzorka A



Príloha 5: Chromatogram viazaných mastných kyselín, vzorka D



Príloha 6: Chromatogram voľných mastných kyselín, vzorka A



Príloha 7: Chromatogram voľných mastných kyselín, vzorka D

